

IMMUNGLOBULINKONZENTRATIONEN
IN SERUM, SEKRETEN, EI UND EMBRYO
DES HAUSHUHNS

Martin Rammensee

Diss
München
1984

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. U. Lösch

Immunglobulinkonzentrationen
in Serum, Sekreten, Ei und Embryo
des Haushuhns

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Martin Rammensee
aus
Nürnberg
München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. U. Lösch
Korreferent: Prof. Dr. M.J. Forstner

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1. Tiermaterial	4
2.2. Gewinnung und Vorbereitung der Proben	4
2.3. Isolierung und Reinigung von Immunglobulinen	7
2.4. Serologische Bestimmungsmethoden, Charakterisierung und Reinheitsüberprüfung	9
2.5. Proteinbestimmung	12
3. Ergebnisse	13
3.1. Gewinnung und Reinigung von IgA	13
3.2. Quantitative Bestimmung der Immunglobuline	15
3.3. Vergleich der Immunglobulinspiegel in Körperflüssigkeiten und -produkten	16
3.3.1. Serum	16
3.3.2. Gallensekret	20
3.3.3. Dünndarm	23
3.3.4. Tränenflüssigkeit	26
3.3.5. Unbebrütetes und bebrütetes Ei	29
3.3.5.1. Unbebrütetes Ei	29
3.3.5.2. 14 Tage bebrütetes Ei	32
3.3.5.3. Eintagsküken	37
4. Diskussion	44
5. Zusammenfassung	60
6. Summary	62
7. Literaturverzeichnis	64

1. Einleitung

Seit 1965 wird am Institut eine immunologisch defekte Hühnerpopulation gehalten; es gelang im Jahr 1977, eine hinsichtlich des Haupthistokompatibilitätskomplexes homozygote Linie herauszuzüchten, deren Genotyp der internationalen Nomenklatur folgend mit B¹⁹B¹⁹ bezeichnet wird. Diese Hühnerlinie wurde demnach UM-B19-Linie genannt (UM = Universität München).

Entsprechend der Verteilung der Immunglobuline im Serum kann man innerhalb dieser Zuchtlinie drei verschiedene Typen unterscheiden: die permanente und transitorische Dysgammaglobulinämie und die Normogammaglobulinämie. Der erste Typ zeichnet sich durch einen extrem niedrigen IgG-Spiegel bei erhöhten IgM- und IgA-Konzentrationen aus. Bei der transitorischen Dysgammaglobulinämie ist dieser Zustand nur vorübergehend, und es stellt sich nach einigen Wochen oder Monaten ein der Norm ähnliches Immunglobulinmuster ein (Lösch et al., 1981).

Bei den normogammaglobulinämischen Tieren entsprechen die IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen in der Regel der Norm oder sie liegen etwas darüber.

Immunglobuline sind in allen Körperflüssigkeiten und -sekreten in verschiedenen Konzentrationen nachgewiesen worden. In den Körperhöhlen liegt die Funktion der Immunglobuline vor allem im Schutz der Schleimhautoberfläche und damit des gesamten Organismus vor Infektionen. Im Ei stellen die mütterlichen Immunglobuline die einzigen Antikörper des heranwachsenden Embryos dar. Sie müssen das Küken auch noch in den ersten Lebenswochen schützen, da erst ab der Mitte des ersten Lebensmonats ein eigener Antikörperschutz vorliegt.

In diesem Zusammenhang erhebt sich die Frage, ob und wie stark die Immunglobulinkonzentrationen bei UM-B19-Tieren in verschiedenen Körpersekreten und im Ei der Norm gegenüber verändert sind und ob diese Veränderungen denen im Serum entsprechen.

Seit im Jahr 1972 Lebacq et al. das erste Mal IgA beim Huhn beschrieben, sind nur wenige Arbeiten über die Immunglobulinkonzentrationen in Körpersekreten beim Huhn veröffentlicht worden. Die Berücksichtigung des IgA ist deshalb so bedeutsam, weil gerade dieses Immunglobulin in Körpersekreten eine wichtige Schutzfunktion besitzt. Darauf weist auch die Sekretkomponente hin, die beim Huhn, genauso wie beim Säuger, in verschiedenen Körpersekreten an IgA gebunden oder in freier Form gefunden wurde. Sie erleichtert den Durchtritt des Immunglobulinmoleküls durch das Epithel und schützt es vor proteolytischer Zersetzung, welche zum Beispiel im Darm auftreten kann.

Autoren, die auf dem Gebiet der quantitativen Immunglobulinbestimmung beim Huhn gearbeitet haben, sind unter anderen Leslie, Lebacq-Verheyden und Rose. Es wurden jedoch nie mehr als drei verschiedene Körpersekrete und -produkte in einer Arbeit mit derselben Methode untersucht, so daß eine umfassende Darstellung der Immunglobulinkonzentrationen beim Huhn in diesen Arbeiten nicht möglich war. Ferner differieren die festgestellten Werte im gleichen Produkt bei den einzelnen Autoren erheblich, teilweise um weit mehr als 100%.

Um deshalb einen vollständigeren Überblick geben zu können, wurden Serum, Tränensekret, Dünndarminhalt, Galle, ferner das unbebrütete und 14 Tage bebrütete

Ei und das Eintagsküken in die Untersuchungen einbezogen. Die Messungen wurden bei normo- und dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern und bei immunologisch intakten Heisdorf-Nelson-Lohmann (HNL)-Kontrolltieren vorgenommen, um die eingangs gestellte Frage des Vergleichs zwischen diesen Tiergruppen schlüssig beantworten zu können.

2. Material und Methoden

2.1. Tiermaterial

Es wurden folgende Tiergruppen verwendet:

- adulte (d.h. mindestens 5 Monate alte) normo- und dysgammaglobulinämische UM-B19-Hühner*
- Embryonen aus 14 Tage bebrüteten Eiern
- Eintagsküken von normo- und dysgammaglobulinämischen Elterntieren der UM-B19-Linie*
- Immunologisch intakte Kontrollhühner der Heisdorf-Nelson-Lohmann (HNL)-Linie

Die Tiere wurden auf Gitterrosten unter konventionellen Bedingungen gehalten und mit handelsüblichem Fertigfutter ohne antibakteriell wirkende Zusätze ernährt. Futter und Trinkwasser standen ad libitum zur Verfügung.

Tylosin (Tylosintartrat ad us. vet., Ely Lilly) wurde in einer Konzentration von 0,5 g/l am 1., 2., 3. und 28. Lebenstag dem Trinkwasser zugesetzt.

2.2. Gewinnung und Vorbereitung der Proben

Dünndarminhalt

Die Gewinnung des Inhalts von Duodenum und Jejunum erfolgte sofort nach der Tötung des Tieres durch Ausstreifen des Darmrohres. Anschließend wurden die Ingesta bei 12000 U/min 15 Minuten zentrifugiert, der Überstand wurde dekantiert und zur Messung verwendet.

*) B19: international gültige Bezeichnung der nach der Prager Nomenklatur B12 (Fiedler, Lösch, Hala 1980) genannten Blutgruppe (Longenecker, pers. Mitteilung 1981)

Galle

Die Gallenblasen wurden den Tieren sofort nach der Tötung entnommen, dann erst geöffnet und ausgestreift. Auf diese Weise konnte eine Verunreinigung der Gallenflüssigkeit mit Blut vermieden werden.

Serum

Das Blut wurde der Flügelvene entnommen, 45 Minuten bei 37°C inkubiert und über Nacht bei 4°C aufbewahrt. Das Serum wurde vom Blutkuchen durch Zentrifugieren bei 3000 U/min über 15 Minuten abgetrennt.

Tränenflüssigkeit

Mit Hilfe von Kapillarröhrchen, die in den Bindehautsack und gegen den inneren Augenwinkel gehalten wurden, konnte die Tränenflüssigkeit entnommen werden. Eine chemische Stimulation des Tränenflusses war nicht notwendig.

Eiklar

Die Präparation erfolgte nach Yamamoto et al. (1975). Das Eiklar wurde mit phosphatgepufferter Saline (PBS^{*}), pH 7,2, im Verhältnis 1:2 verdünnt, danach mit Ammoniumsulfat zu 50% gesättigt und der Niederschlag bei 10000 U/min abzentrifugiert. Das Präzipitat wurde in der der Ausgangsmenge an Eiklar entsprechenden Menge PBS^{*} aufgenommen.

* NaCl	0,58 g
KH ₂ PO ₄	0,41 g
Na ₂ azid	0,02 g
H ₂ O	ad 100,0 ml

Eidotter / Dottersack

Die Präparation erfolgte nach Burstein und Saimaille (1959). Nach einer Verdünnung des Dottermaterials mit PBS, pH 7,2, im Verhältnis 1:5 wurden pro 10 ml Dottermaterial zunächst 0,4 ml zehnprozentiges Dextransulfat und dann 1 ml 1M CaCl_2 -Lösung zugefügt. Nach 15 Minuten wurde der Niederschlag bei 10000 U/min 10 Minuten abzentrifugiert. War der Überstand noch nicht klar, mußte der Vorgang wiederholt werden, um das Fett vollständig aus der Probe zu entfernen.

Amnionflüssigkeit

Die Amnionflüssigkeit wurde ohne jede Präparation zur Messung verwendet.

Sämtliche beschriebenen Proben wurden nach der Gewinnung oder Präparation entweder sofort zur Messung verwendet oder bei -35°C aufbewahrt.

Nach der Messung wurde, wenn notwendig, auf die Immunglobulinkonzentration der Ausgangssubstanzen zurückgerechnet.

2.3. Isolierung und Reinigung von Immunglobulinen

Als Standardsubstanzen für quantitative und qualitative Bestimmungen wurden gereinigte Produkte von IgG, IgM und IgA verwendet.

IgA

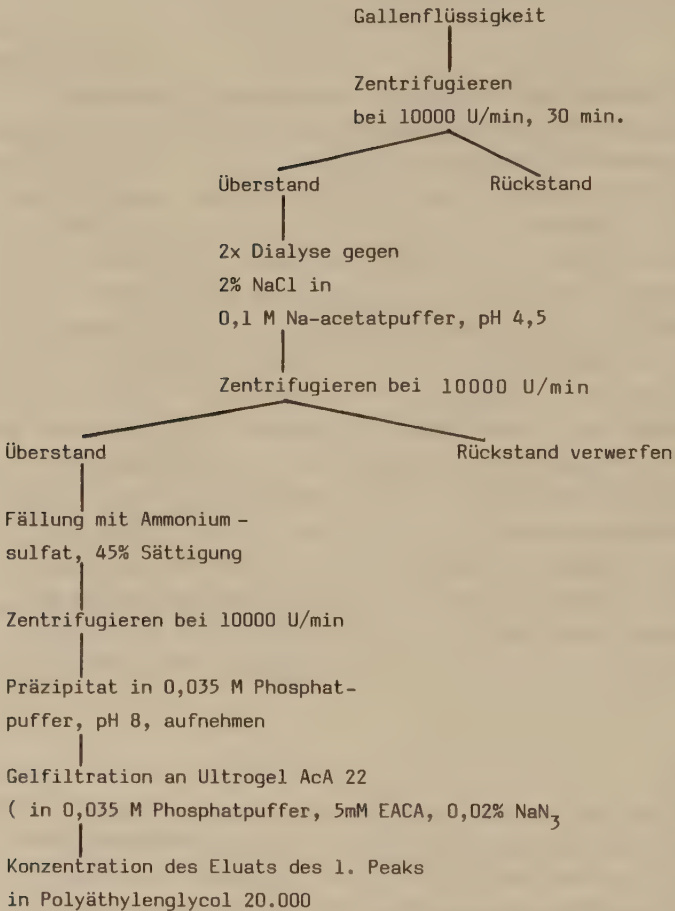
Als Quelle für IgA diente Hühnergalle. Sie wurde folgenden Reinigungsschritten unterzogen (modifiziert nach Sanders and Case, 1977) :

Zur Entfernung der Mucine wurde zweimal gegen 2% NaCl in 1M Na-acetatpuffer dialysiert; die ausgefallenen Mucine wurden bei 15000 U/min abzentrifugiert. Dann erfolgte eine Fällung der Immunglobuline durch 45%ige Sättigung der Gallenflüssigkeit mit Ammoniumsulfat. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert, anschließend in einem möglichst geringen Volumen Phosphatpuffer (+ 5mM ϵ -Aminocaprönsäure (EACA), 0,02% NaN_3 , pH 8,0) gelöst und auf einer 2,4 x 100 cm Säule an Ultrogel AcA 22 (Fa. LKB, Schweden) im selben Puffer chromatographiert. Das Eluat des ersten Gipfels im Chromatogramm bestand aus reinem, das des zweiten aus leicht verunreinigtem IgA und das des dritten hauptsächlich aus Gallenfarbstoffen. Es wurde das Eluat des ersten Peaks als Standardsubstanz verwendet. (Tab.1)

IgG

IgG konnte aus dem Serum normogammaglobulinämischer Hühner gewonnen werden. Die Reinigung erfolgte mittels Gelfiltration an Ultrogel AcA 34 und anschließender Anionenaustauschchromatographie an Cellulose DEAE 52 (Schranner et al., 1982).

Tabelle 1: Schematische Darstellung der Isolierung
von IgA aus Hühnergalle



IgM

IgM wurde aus dem Serum dysgammaglobulinämischer Hühner durch zwei aufeinanderfolgende Gelfiltrationen isoliert, zuerst an Ultrogel AcA 34 und anschließend an Ultrogel A 6 (Schraner et al., 1982).

Die immunglobulinhaltigen Fraktionen wurden jeweils mit Polyäthylenglycol 20.000 (Fa. Serva) oder durch Druckdialyse mit Collodiumhülsen (Fa. Sartorius) eingeengt.

2.4. Serologische Bestimmungsmethoden, Charakterisierung und Reinheitsüberprüfung

Immunelektrophorese

Um die Verteilung der Immunglobuline in den verschiedenen Proben beurteilen zu können, wurde die Immunelektrophorese (Modifikation nach Scheidegger, 1955) durchgeführt. Die genauen Arbeitsmethoden wurden von Bohner (1977) beschrieben.

Zweidimensionale Immunelektrophorese (Laurell, 1965)

Die Monospezifität der Antiseren und der nach 2.3. gewonnenen Standardsubstanzen wurde mit der zweidimensionalen Immunelektrophorese nach Laurell (1965) überprüft und nachgewiesen.

Durch einen ersten Elektrophoreseschritt in neutraler und einen zweiten in antiserumhaltiger Agarose kann ein Proteingemisch aufgetrennt und seine einzelnen Komponenten durch ihre Präzipitationslinien sehr gut dargestellt werden.

Die erste Dimension wurde in 1%iger Agarose L durchgeführt, die Spannung betrug 10 V/cm, die Laufzeit 1,5 Stunden. Bei der zweiten Dimension wurde mit einer Antiserumkonzentration von 50 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ gearbeitet. Hier betrug die Spannung 1 V/cm bei einer Laufzeit von 16 Stunden.

Die Herstellung der Gelmatrix sowie der Trocken- und Färbevorgang werden im Abschnitt 'Rocket-Immunoelektrophorese' beschrieben.

Rocket-Immunoelektrophorese

Die quantitative Bestimmung der Immunglobuline erfolgte mit Hilfe der Rocket-Immunoelektrophorese nach Laurell (1966). 1%ige Agarose L (Fa. LKB, Schweden) wurde in 1:5 verdünntem Tris-Barbituratpuffer¹⁾, pH 8,6, zum Sieden erhitzt, im Wasserbad auf 55°C abgekühlt und mit der erforderlichen Menge monospezifischen Antiserums gut vermischt. Auf eine Glasplatte von 10 x 10 cm wurden insgesamt 15 ml dieser antiserumhaltigen Agarose aufgebracht. Die Konzentration betrug bei allen Immunglobulinklassen ungefähr 1-2 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Pro Platte konnten 13 Löcher gestanzt werden. Die Auftragsmenge betrug 5 μl .

Als Laufpuffer für die Elektrophorese wurde der Stamppuffer 1:4 verdünnt; die Feldstärke betrug 1 V/cm, die Laufzeit 12 - 16 Stunden.

1)
112,00 g Diäthylbarbitursäure
221,50 g Tris-hydroxymethyl-aminomethan
2,66 g Ca-Lactat
3,25 g NaN_3
ad 5 l aqua bidest. (= Stamppuffer)

Nach der Elektrophorese wurden die Platten 60 Minuten in physiologischer Kochsalzlösung gewässert, dann zweimal mit 2 - 3 Lagen Filtrierpapaier (Whatman) bedeckt und 30 Minuten gepreßt und mit Heißluft getrocknet. Die Färbedauer in Coomassie-Brilliant-Blau-Lösung¹⁾ (Fa. Serva) betrug 5 Minuten, die Entfärbedauer²⁾ 10 Minuten.

Die Länge der Präzipitate wurde auf dem Leuchttisch auf Millimeterpapier abgelesen. Die Immunglobulin-konzentrationen der einzelnen Proben errechnete man aus graphischen Eichgeraden, die sich aus einer Standardverdünnungsreihe mit mindestens 4 Verdünnungsstufen, die auf jeder Platte mitgeführt wurde, ergaben.

Die untere Meßbereichsgrenze lag bei:

0,01 mg/ml für IgG

0,01 mg/ml für IgM

0,005 mg/ml für IgA

1) 450 ml Äthanol
100 ml Essigsäure
450 ml aqua bidest.
5 g Coomassie Brilliantblau (Fa. Serva)

2) 250 ml Äthanol 96%
100 ml Essigsäure
450 ml aqua bidest.

2.5. Proteinbestimmung

Der Proteingehalt der Standardsubstanzen wurde mit den Methoden nach Bradford (1976) und Lowry et al. (1951) bestimmt.

Methode nach Bradford

Diese empfindliche Methode beruht auf einer Protein-Farbstoffbindung und zeichnet sich durch eine geringe Störanfälligkeit aus. Sie ist schnell und leicht durchführbar.

Es werden 0,1 ml Probe und 5 ml Reagenz¹⁾ vermischt; die Bestimmung der Extinktion erfolgt nach 10 Minuten bei 595 nm im Photometer (Zeiss).

Die Eichkurve basiert auf 6 Verdünnungsstufen von Rinderserumimmunglobulin (Behringwerke, Marburg).

Methode nach Lowry

Für die Methode nach Lowry sind zwei Reagenzien notwendig:

1. alkalisches Cu-Reagenz²⁾
2. Folin-Ciocalteus-Reagenz Merck 9001 (1:10 verdünnt)

Es werden 1 ml Probe mit 2 ml alkalischem Cu-Reagenz und 1 ml Phenolreagenz gut vermischt und bei 60 °C inkubiert. Nach 10 Minuten wird die Extinktion bei 750 nm im Photometer (Zeiss) bestimmt.

Die Eichkurve wurde mit Hilfe von sechs HSA-Verdünnungsstufen erstellt.

1) 150 mg Coomassieblue G-250 (Fa. Serva)
50 ml Äthanol (96%)
50 ml Phosphorsäure (85%)
ad 1000 ml aqua bidest.

2)
2 g Na_2CO_3
98 ml 0,1 N NaOH
1 ml 2% Na-Tartrat
1 ml 1% $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$

3. Ergebnisse

3.1. Gewinnung und Reinigung von IgA

Bei der Isolierung von IgA aus Galle ist von Vorteil, daß es im Vergleich zum Serum in höherer Konzentration vorliegt und andere Immunglobuline sowie Proteine, die die Reinigung erschweren, nur in sehr geringer Menge vorhanden sind.

Das durch fraktionierte Fällung aus der Galle gewonnene 'Roh-IgA' zeigte bei der Gelfiltration über eine Ultrogel AcA 22-Säule drei Gipfel (Abb.1).

Die ersten beiden konnten mit Hilfe der Immunelektrophorese und der zweidimensionalen Elektrophorese als IgA klassifiziert werden. Bei dem ersten Gipfel handelt es sich um Aggregationsformen des IgA (polymere IgA) und bei dem zweiten Gipfel um die monomere Form. Da das Eluat des zweiten Gipfels noch geringfügig verunreinigt war und der größere Teil als Polymere vorlag, wurde als Standardsubstanz und zur Immunisierung von Kaninchen die polymere IgA-Form verwendet.

Der dritte Gipfel enthielt die Gallenfarbstoffe und das Albumin.

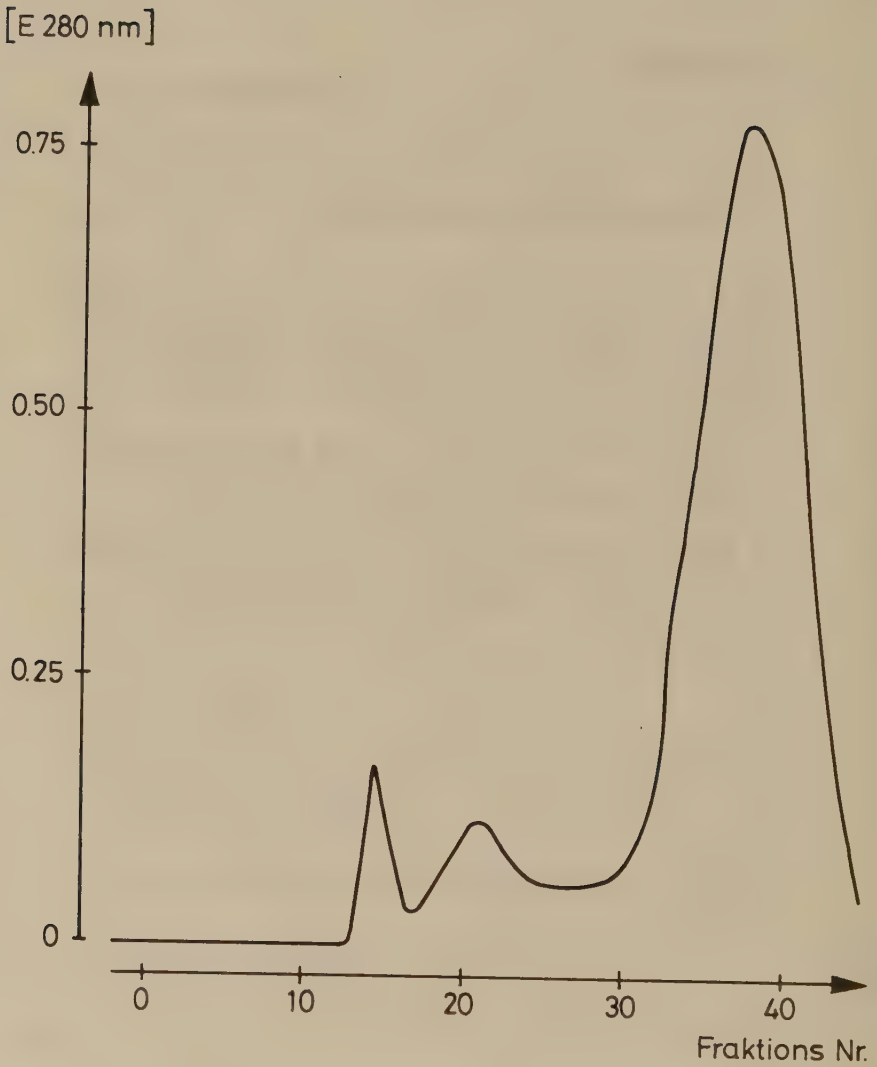


Abb.1: Chromatographische Trennung von 'Roh-IgA' an Ultrogel AcA 22
in 0,035 M Phosphatpuffer, pH 8,0

3.2. Quantitative Bestimmung der Immunglobuline

Zur quantitativen Bestimmung der Immunglobuline bieten sich insbesondere die einfache radiale Immundiffusion (Mancini et al, 1965) und die Rocket-Immunelektrophorese (Laurell, 1966, Axelsen et al., 1973) an.

Zur Erstellung der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich die Technik der Rocket-Immunelektrophorese angewendet, die gegenüber der einfachen radialen Immundiffusion einige Vorteile bietet:

- Die Farbstoffe der Galle oder verschiedene andere Inhaltsstoffe würden bei Anwendung der einfachen radialen Immundiffusion im Agar zurückbleiben, sich beim Färbevorgang mit anfärben und eine Auswertung unmöglich machen. Durch das Anlegen der Spannung bei der Elektrophorese wandern diese störenden Bestandteile der Proben aus dem Agar heraus. Eine Vorbehandlung der Proben, die eine Verdünnung der Substanz und durch die dadurch notwendige rechnerische Kalkulation der Ergebnisse eine Verfälschung der Resultate mit sich bringen könnte, ist außer bei Proben vom Hühnerei nicht notwendig; die Proben können unverdünnt aufgetragen werden.
- Dieses Verfahren ist einfach und schnell durchzuführen; mit der unter 2.4. beschriebenen Methode sind die Ergebnisse innerhalb von 17 Stunden zu ermitteln, durch das Anlegen einer höheren Spannung läßt sich diese Zeit sogar auf vier Stunden verkürzen. Im Gegensatz dazu vergehen zwischen Ansatz und Auswertung bei Einsatz der einfachen radialen Immundiffusion bis zu fünf Tage.

3.3. Vergleich der Immunglobulinspiegel in Körperflüssigkeiten und -produkten

Die Ergebnisse der quantitativen Immunglobulinbestimmung sind im Folgenden nach den einzelnen Körperflüssigkeiten gegliedert. In jedem dieser Abschnitte werden die Werte für dysgammaglobulinämische, normogammaglobulinämische und Kontrolltiere gesondert besprochen.

3.3.1. Serum

Alle Seren, sowohl die der Kontrollen als auch die der UM-B19-Hühner, wurden in der Immunelektrophorese qualitativ auf Anwesenheit von IgG, IgM und IgA getestet. Danach wurde die Einteilung der UM-B19-Hühner in dysgammaglobulinämische und normogammaglobulinämische Tiere durchgeführt.

Kontrolltiere

Die mit Hilfe der Rocket-Technik gefundenen Konzentrationen von IgG, IgM und IgA (Abb.2) entsprechen im wesentlichen den von Leslie et al. (1978) beschriebenen Werten.

Sie betragen für IgG 4,96 mg/ml
für IgM 1,36 mg/ml
für IgA 0,36 mg/ml

Dysgammaglobulinämische Tiere

Wie bereits erwähnt, besitzen die dysgammaglobulinämischen Tiere kein oder nur Spuren von IgG. Der Durchschnittswert von 15 untersuchten Tieren beträgt 0,05 mg/ml (=1% der Norm). Dabei weisen 9 Tiere überhaupt kein nachweisbares IgG auf, d.h. <0.01 mg/ml, während die Werte der übrigen um 0,2 mg/ml liegen.

Die IgM-Konzentrationen liegen bei allen dysgammaglobulinämischen Tieren erheblich über denen der Kontrolltiere. Es ergibt sich ein Durchschnittswert von 4,3 mg/ml, was dem 3,4-fachen der Norm entspricht. Hier variieren die Werte der einzelnen Tiere bei weitem nicht so stark wie beim IgG; die Standardabweichung ($\pm 1,5$ mg/ml) ist geringer.

Die IgA-Konzentration ist bei den dysgammaglobulinämischen Tieren nicht in demselben Umfang wie die von IgM erhöht, aber sie erreicht mit 0,6 mg/ml fast die doppelten Werte der Kontrolltiere.

Normogammaglobulinämische Tiere

Diese Tiergruppe besitzt mit 8,44 mg/ml den höchsten IgG-Gehalt im Serum; bei einzelnen Tieren entspricht die IgG-Konzentration vollkommen den immunologisch normalen Tieren, andere liegen fast um das Doppelte darüber.

Die durchschnittliche IgM-Konzentration der normogammaglobulinämischen Tiere liegt mit 2,8 mg/ml zwischen Kontroll- und dysgammaglobulinämischen Tieren.

Ähnlich wie die IgM-Konzentration liegt auch die von IgA mit 0,6 mg/ml zwischen den entsprechenden Werten der dysgammaglobulinämischen und der Kontrolltiere. Auch bezüglich des IgM- und IgA-Gehalts des Serums entspricht ein Teil der normogammaglobulinämischen Versuchstiere den Kontrollen, während der andere teilweise stark erhöhte Werte aufweist (Abb.2).

[mg / ml]

- 19 -

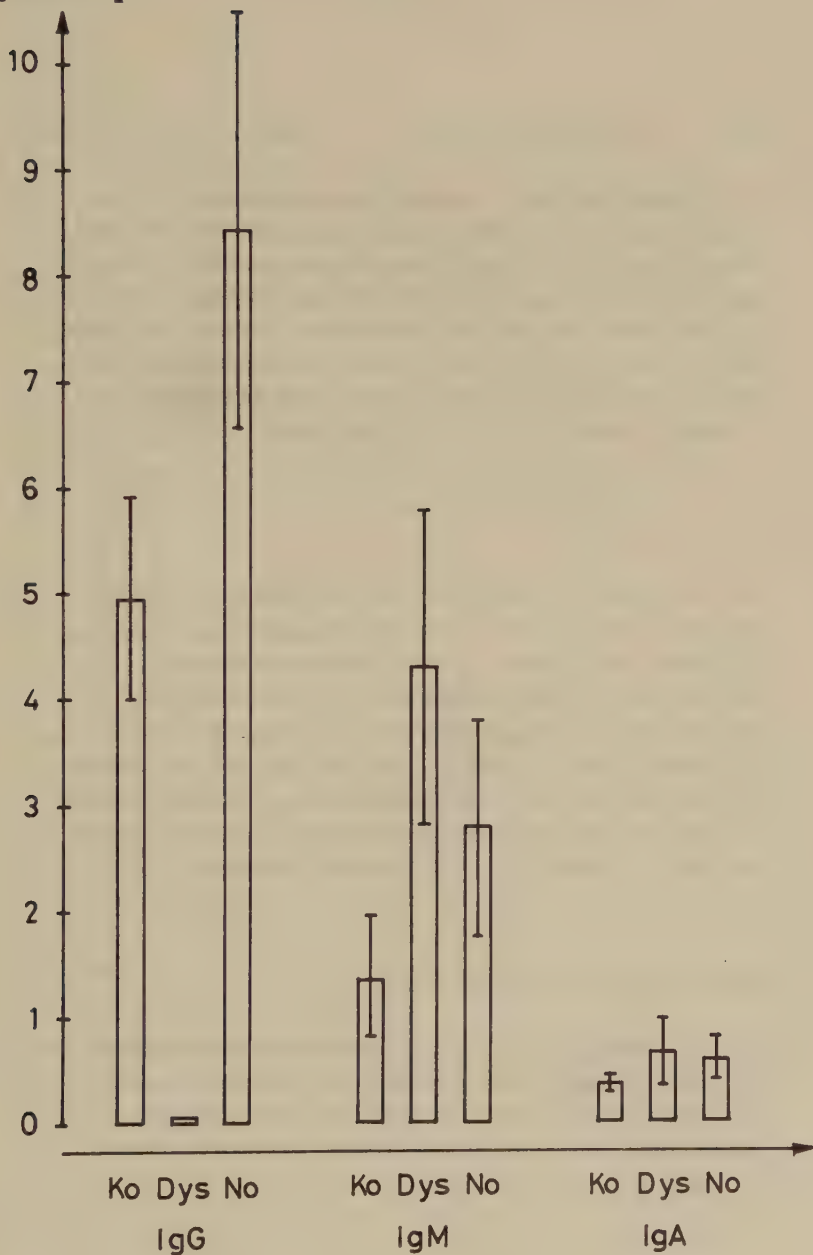


Abb.2: Immunglobulinkonzentrationen im Serum adulter dysgammaglobulin-
ämischer (Dys) und normogammaglobulinämischer (No) UM-B19-Hühner
im Vergleich zu Kontrolltieren (Ko)

n: siehe Tabellen Seite 40 - 43

3.3.2. Gallensekret

Die Viskosität des Gallensekretes war je nach dem Entnahmezeitpunkt sehr verschieden, sie reichte von dünnflüssig bis zu dickflüssig-fadenziehend. Entsprechend waren auch die Immunglobulinkonzentrationen in den dickflüssigen Gallensekreten wesentlich höher als in den dünnflüssigen. Diese Tatsache erklärt den relativ hohen Schwankungsbereich der Immunglobulinkonzentrationen der Gallenflüssigkeit.

Kontrolltiere

Das Hauptimmunglobulin der Gallenflüssigkeit stellt das IgA dar, das hier in einer Menge von 6,7 mg/ml vorkommt. Damit besitzt das Gallensekret eine 20-fach höhere IgA-Konzentration als das Serum. Die anderen beiden Immunglobulinklassen treten im Verhältnis dazu erheblich zurück. IgG ist bei allen Tieren nur in Spuren (0,09 mg/ml) zu finden; das IgM ist bei der Hälfte der untersuchten Tiere mit einem Durchschnittswert von 0,54 mg/ml erfaßbar.

Dysgammaglobulinämische Tiere

Die IgG-Konzentration liegt bei den dysgammaglobulinämischen Tieren unter der Meßbereichsgrenze von 0,01 mg/ml. Nur bei einem einzigen der untersuchten Tiere ließ sich IgG in der Gallenflüssigkeit nachweisen (0,05 mg/ml).

Auch bei den dysgammaglobulinämischen Tieren tritt die IgM-Konzentration (3,13 mg/ml) der Gallenflüssigkeit hinter der des Serums zurück, jedoch nicht in demselben Umfang wie bei den Kontrolltieren. Bei den dysgammaglobulinämischen Tieren weist die Galle 73% der IgM-Serumkonzentration auf, bei den Kontrolltieren nur 40%.

Das IgA stellt auch bei dieser Tiergruppe die wichtigste Immunglobulinklasse der Galle dar. Es tritt hier in einer Konzentration von 12,2 mg/ml auf. Damit ist der IgA-Wert der Galle gegenüber dem Serumwert genau so stark erhöht wie bei den Kontrolltieren.

Normogammaglobulinämische Tiere

Mit einer IgG-Konzentration in der Galle von 0,11 mg/ml entsprechen die Werte der normogammaglobulinämischen Tiere denen der Kontrolltiere. Damit steht bei dieser Tiergruppe einem erhöhten Serum-IgG-Wert ein der Norm entsprechender Gallen-IgG-Wert gegenüber.

Die IgM-Konzentration der Galle von 1,26 mg/ml liegt zwischen den dysgammaglobulinämischen und den Kontrolltieren.

Die IgA-Konzentration von 4,18 mg/ml ist die niedrigste der drei Versuchstiergruppen.

Die Immunglobulinkonzentrationen in der Gallenflüssigkeit werden durch die Abbildung 3 verdeutlicht.

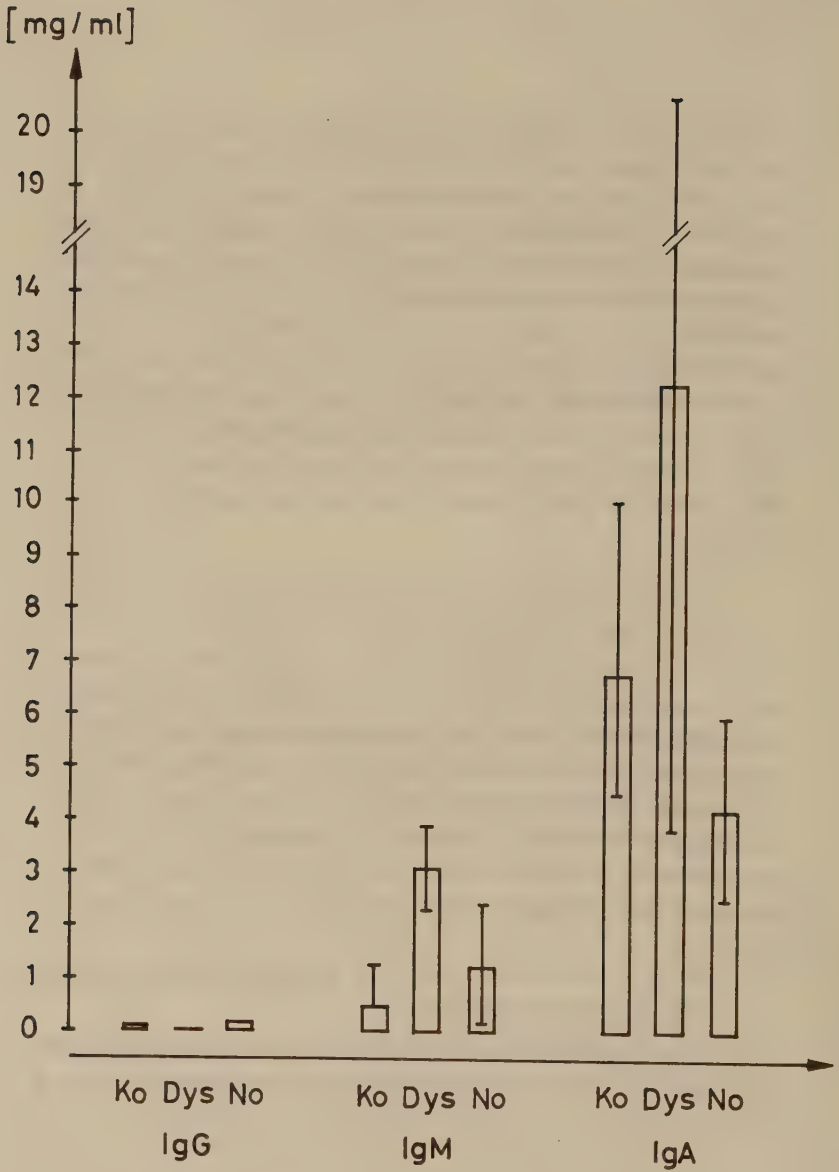


Abb.3: Immunglobulinkonzentrationen im Gallensekret adulter dysgamma-
globulinämischer (Dys) und normogammaglobulinämischer (No)
UM-B19-Hühner im Vergleich zu Kontrolltieren (Ko)

3.3.3. Dünndarm

Ähnlich wie beim Gallensekret traten auch hier starke Schwankungen hinsichtlich Menge und Konsistenz des Darminhaltes mit einer entsprechenden Variationsbreite der Immunglobulinkonzentrationen auf.

Um auch bei einer geringgradigen Füllung des Darmkanals noch genügend Probenmaterial zu erhalten, wurde der Inhalt des gesamten Dünndarms verwendet und nicht etwa nur Ingesta aus dem Duodenum.

Der Zusatz eines Trypsininhibitors zum Schutz des Probenmaterials vor autolytischer Zersetzung erwies sich als nicht notwendig.

Kontrolltiere

IgG tritt im Dünndarm in einer durchschnittlichen Konzentration von 0,019 mg/ml auf. Bei zwei Tieren war kein IgG nachweisbar.

Während demnach das IgG in der Regel noch in Spuren vorhanden ist, ist IgM bei keinem der Tiere nachzuweisen.

IgA stellt auch im Dünndarm das wichtigste Immunglobulin dar. Es kommt hier in einer Konzentration von 1,33 mg/ml vor, was dem Vierfachen des Serumwertes entspricht. IgA ist bei allen Tieren zu finden.

Dysgammaglobulinämische Tiere

Bis auf eine Ausnahme ist bei den untersuchten dysgammaglobulinämischen Tieren kein IgG im Darm nachzuweisen.

Auch IgM ist bei keinem der Tiere vorhanden.

Entsprechend den Befunden bei Serum und Galle ist IgA auch im Darm in erhöhter Konzentration anzutreffen. Die durchschnittliche IgA-Konzentration beträgt 2,62 mg/ml, was einer Erhöhung gegenüber den Kontrolltieren um das Doppelte entspricht.

Wie bei den Kontrolltieren liegt auch bei den dysgammaglobulinämischen Tieren im Darm eine vierfach höhere IgA-Konzentration als im Serum vor.

Normogammaglobulinämische Tiere

Wie bei den Kontrolltieren sind auch bei den normogammaglobulinämischen Tieren IgG und IgA im Darm vorhanden.

Die IgG-Werte sind mit 0,14 mg/ml gegenüber der Norm stark erhöht; die IgA-Werte entsprechen mit 1,21 mg/ml in etwa der Norm.

Auch bei diesen Tieren ist kein IgM im Darm nachzuweisen.

Die Immunglobulinkonzentrationen im Dünndarminhalt der drei Versuchstiergruppen werden durch die Abbildung 4 dargestellt.

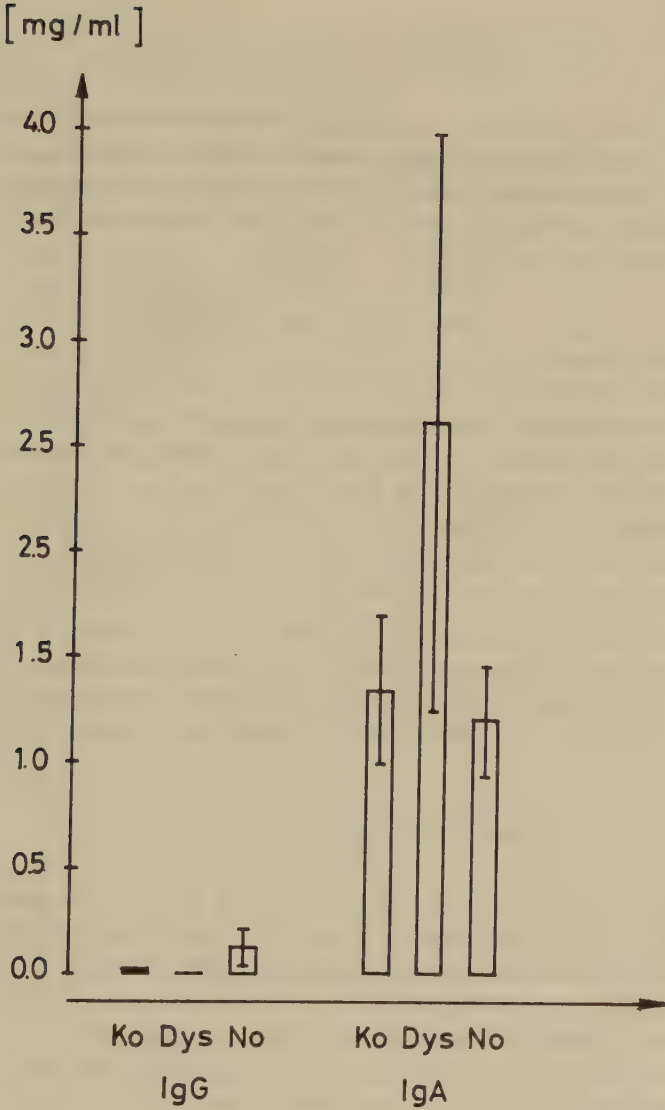


Abb. 4: Immunglobulinkonzentrationen im Dünndarminhalt adulter dysgammaglobulinämischer (Dys) und normogammaglobulinämischer (No) UM-B19-Hühner im Vergleich zu Kontrolltieren (Ko)

3.3.4. Tränenflüssigkeit

Die Tränenflüssigkeit wurde, wie unter 2.2. beschrieben, ohne chemische Stimulation des Tränenflusses gewonnen, so daß die Ergebnisse nicht durch eine Verdünnung des Sekretes verfälscht sind. Mit Blut verunreinigte Proben wurden verworfen.

Kontrolltiere

Die Kontrolltiere weisen einen IgG-Gehalt in der Tränenflüssigkeit von 1,55 mg/ml auf. Damit übertrifft die Tränenflüssigkeit das Darm- und Gallensekret im IgG-Gehalt bei weitem.

IgM ist in einer Konzentration von 0,59 mg/ml vorhanden, was etwa dem IgM-Gehalt der Galle entspricht.

Der IgA-Gehalt beträgt 0,31 mg/ml und liegt damit tiefer als im Serum. Somit stellt die Tränenflüssigkeit das einzige in dieser Arbeit untersuchte Körpersekret dar, in dem IgA nicht das Hauptimmunglobulin darstellt.

Dysgammaglobulinämische Tiere

Während bei den Kontrolltieren das IgG das am höchsten konzentrierte Immunglobulin ist, übernimmt bei den dysgammaglobulinämischen Tieren das IgA diese Rolle.

Es kommt mit 1,55 mg/ml in einer zweieinhalbfach höheren Konzentration als im Serum vor, während IgG nur bei einem von sechs Tieren in einer geringen Konzentration (0,2 mg/ml) nachweisbar war.

IgM liegt mit 1,34 mg/ml gegenüber den Kontrollen in doppelter Menge vor.

Normogammaglobulinämische Tiere

Die normogammaglobulinämischen Tiere weisen bei allen drei Immunglobulinklassen erhöhte Werte auf.

Das häufigste Immunglobulin ist hier wiederum IgG mit 1,3 mg/ml.

IgM liegt mit 1,05 mg/ml zwischen den Kontroll- und dysgammaglobulinämischen Tieren.

IgA ist gegenüber der Norm um das Doppelte erhöht und weist eine Konzentration von 0,76 mg/ml auf. Das heißt, daß der IgA-Spiegel wie bei den dysgammaglobulinämischen Tieren in der Tränenflüssigkeit höher als im Serum ist.

Die graphische Darstellung der Immunglobulinkonzentrationen in der Tränenflüssigkeit findet sich in Abbildung 5.

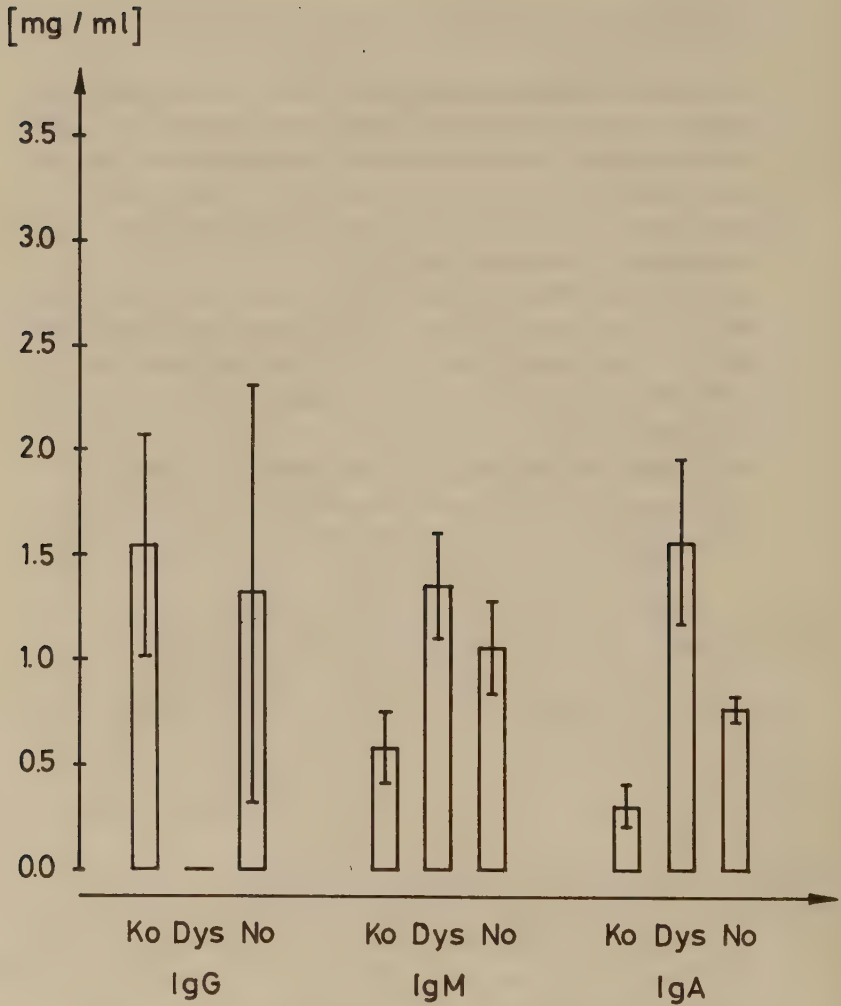


Abb.5: Immunglobulinkonzentrationen in der Tränenflüssigkeit adulter dysgammaglobulinämischer (Dys) und normogammaglobulinämischer (No) UM-B19-Hühner im Vergleich zu Kontrolltieren (Ko)

3.3.5. Unbebrütetes und bebrütetes Hühnerei

Im Gegensatz zu Gallenflüssigkeit, Darmsekret und Tränenflüssigkeit war bei Dotter und Eiklar eine quantitative Immunglobulinbestimmung ohne vorhergehende Präparation der Proben nicht durchführbar; zwar würde die Ablesung der Präzipitate keine Schwierigkeiten bereiten, aber die hohe Viskosität von Dotter und Eiklar macht das Auftragen einer genau definierten Probenmenge unmöglich. Eine Abtrennung der nicht wasserlöslichen Substanzen in Dotter und Eiklar ist deshalb unumgänglich.

3.3.5.1. Unbebrütetes Hühnerei

Eier von Kontrolltieren

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der meisten Autoren, die sich mit dem Hühnerei beschäftigt haben, konnte im Eidotter bei keiner Probe IgM und IgA gefunden werden.

Für IgG, das also das einzige Immunglobulin im Dotter darstellt, ergibt sich ein Durchschnittswert von 2,93 mg/ml (Abb.6).

Im Eiklar sind Immunglobuline nur in äußerst geringen Mengen zu finden (Abb.7).

IgA befindet sich mit 0,0082 mg/ml nur knapp über der Nachweisgrenze.

Der IgM-Spiegel ist mit 0,044 mg/ml etwas höher.

IgG ist im Eiklar nicht zu erfassen.

Eier von dysgammaglobulinämischen Tieren

Ähnlich wie im Serum, wo manche dysgammaglobulinämischen Tiere Spuren von IgG aufweisen, wurde in einem von sechs Eiern im Dotter eine geringe Menge IgG (0,12 mg/ml) gefunden. Sonst ist IgG im Dotter von Eiern dysgammaglobulinämischer Hühner nicht nachweisbar.

Auch IgM liegt wie bei den Kontrollen unter der Grenze der Erfassbarkeit (Abb.6).

Statt IgG ist bei dieser Tiergruppe IgA im Dotter zu finden. Mit 0,11 mg/ml kommt IgA bei den Eiern dysgammaglobulinämischer Tiere in wesentlich geringerer Menge als das IgG bei den Kontrolleiern vor. Bei zwei Eiern war im Dotter auch kein IgA zu finden; in diesen beiden Fällen fehlte dieses Immunglobulin allerdings auch im Eiklar.

Im Eiklar sind bei den dysgammaglobulinämischen Tieren die gleichen Immunglobulinklassen wie bei den Kontrollen zu finden; die Konzentrationen sind aber höher. Die IgM- und IgA-Spiegel liegen mit 0,1 mg/ml beziehungsweise 0,021 mg/ml jeweils gut 100% über der Norm (Abb.7).

Eier normogammaglobulinämischer Tiere

Der IgG-Spiegel im Dotter entspricht mit 3,31 mg/ml dem der Kontrolleier; auch der Schwankungsbereich bewegt sich im selben Rahmen ($\pm$ 0,16 mg/ml).

IgM ist bei dieser Tiergruppe ebenfalls nicht zu finden.

Der IgA-Gehalt im Dotter stimmt mit dem von dysgammaglobulinämischen Tieren überein; er beträgt durchschnittlich 0,1 mg/ml (Abb.6).

Im Eiklar sind die Immunglobulinspiegel tiefer als bei Eiern dysgammaglobulinämischer Hühner (Abb.7).

Der IgM-Spiegel entspricht mit 0,043 mg/ml dem Kontrollwert.

Die IgA-Konzentration von 0,012 mg/ml liegt zwischen den anderen beiden Tiergruppen, sie beträgt etwa 1/10 der IgA-Konzentration im Eidotter.

IgG ist nicht nachweisbar.

3.3.5.2. 14 Tage bebrütetes Ei

Um auch beim bebrüteten Hühnerei einen einigermaßen vollständigen Überblick über die Verteilung der Immunglobuline im Ei zu bekommen, wurden auch Amnion- und Allantoisflüssigkeit in die Untersuchungen mit einbezogen. Diese beiden Produkte konnten ohne weitere Vorbereitung auf ihren Immunglobulingehalt untersucht werden.

Eier von Kontrolltieren

In qualitativer Hinsicht ändert sich im Immunglobulingehalt des Dotters bei der Bebrütung bis zum 14. Bruttag nichts. Die Konzentration des IgG hat sich allerdings um 1 mg/ml auf 3,95 mg/ml Dottersackinhalt erhöht.

Im Eiklar, das im unbebrüteten Ei nur IgM und IgA enthielt, ist nun auch IgG zu finden. Es tritt zwar nur in sehr geringen Mengen von durchschnittlich 0,04 mg/ml auf, ist jedoch in jeder Probe nachzuweisen. Die Konzentrationen von IgM und IgA sind auf 0,08 mg/ml beziehungsweise 0,05 mg/ml angestiegen (Abb.7).

Während in der Allantoisflüssigkeit überhaupt keine Immunglobuline nachweisbar sind, liegt der Immunglobulinspiegel des Amnions nur etwas unter dem des Eiklars; die Konzentration von IgG beträgt 0,02 mg/ml, von IgM 0,07 mg/ml und von IgA 0,02 mg/ml.

Eier von dysgammaglobulinämischen Elterntieren

Genau wie im Dotter des unbebrüteten Eies ist auch beim 14 Tage alten Embryo im Dottersack nur IgA nachzuweisen. Die Konzentration hat sich, allerdings nur unwesentlich, von 0,11 mg/ml auf 0,14 mg/ml erhöht (Abb.6).

Bei dem Muttertier von zwei Embryonen, die im Dottersack Spuren von IgG aufwiesen, konnte im Serum ebenfalls IgG gefunden werden.

Im Eiklar sind, ebenso wie bei den unbebrüteten Eiern, IgM und IgA nachzuweisen, wobei die Konzentrationen beider Immunglobuline angestiegen sind.

Der IgA-Gehalt ist von 0,021 mg/ml um das zehnfache auf 0,25 mg/ml angewachsen.

IgM hat sich nur wenig von 0,1 auf 0,14 mg/ml vermehrt (Abb.7).

Während in der Allantois zu diesem Bebrütungszeitpunkt überhaupt keine Immunglobuline erfassbar sind, sind in der Amnionflüssigkeit geringe Immunglobulin-gehalte zu finden.

Bis auf ein Tier, das auch im Dottersack etwas IgG aufwies, ist dieses Immunglobulin im Amnion nicht nachweisbar.

IgM tritt mit einer Durchschnittskonzentration von 0,1 mg/ml auf, was eine nur etwas geringere Menge wie im Eiklar darstellt.

Der IgA-Spiegel macht dagegen mit 0,05 mg/ml nur 1/5 der IgA-Konzentration im Eiklar aus.

Eier von normogammaglobulinämischen Elterntieren

Überraschenderweise ist bei den bebrüteten Eiern normogammaglobulinämischer Elterntiere im Dottersack nur mehr IgG zu finden. Dieses ist in seiner Konzentration im Vergleich zum unbebrüteten Ei um 2,4 mg/ml auf 5,7 mg/ml angestiegen (Abb.6).

IgA, das beim unbebrüteten Ei in jeder Probe zu finden war, ist jetzt nur noch bei einem Embryo in einer geringen Konzentration (0,05 mg/ml) erfassbar.

Auch im Eiklar hat sich eine qualitative Veränderung ergeben. Hier ist jetzt IgG in einer Konzentration von 0,06 mg/ml vorhanden. Trotz großer Konzentrationsdifferenzen in den einzelnen Proben ist es in jedem Falle nachweisbar.

Der IgM-Spiegel ist gegenüber dem unbebrüteten Ei sehr gesteigert. Er beträgt jetzt 0,11 mg/ml, was einer Zunahme um das Dreifache entspricht (Abb.7).

Auch die IgA-Konzentration hat sich um das Dreifache auf 0,04 mg/ml erhöht und entspricht damit in etwa den Kontrollen.

In der Allantois sind bis auf zwei Proben, bei denen etwas IgG (0,015 mg/ml) vorhanden war, wiederum keine Immunglobuline nachzuweisen.

Im Amnion entspricht die Konzentration von IgG mit 0,03 mg/ml und von IgA mit 0,016 mg/ml den Kontrollen, während IgM mit 0,14 mg/ml um das Doppelte stärker konzentriert vorliegt.

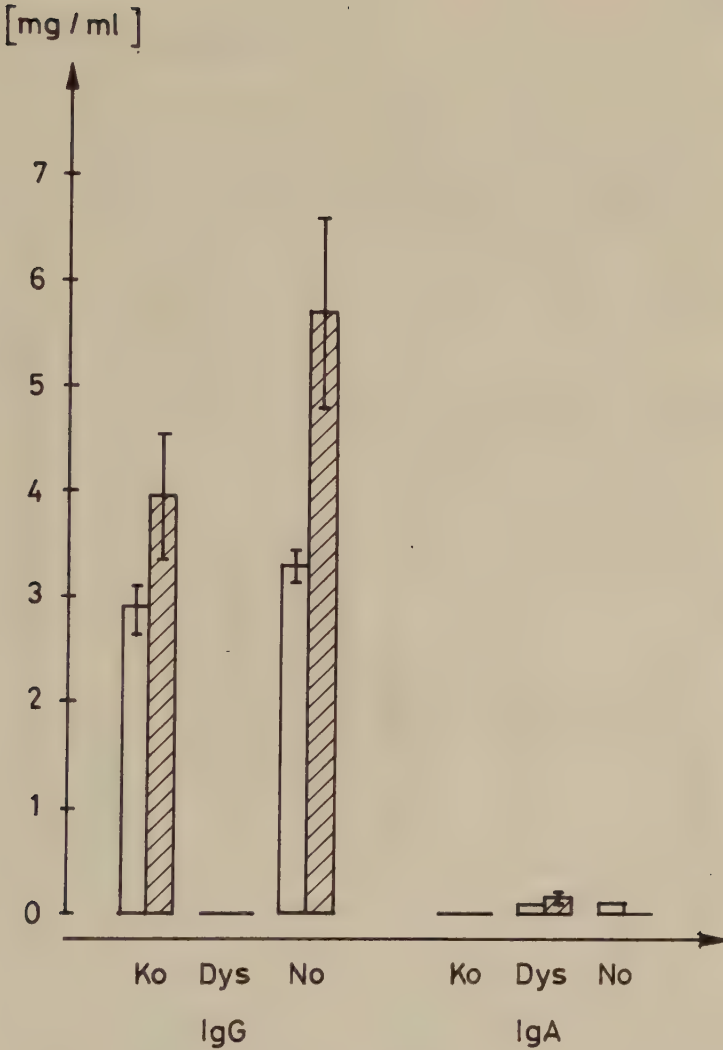


Abb. 6: Immunglobulinkonzentrationen im Dotter von unbebrüteten und 14 Tage bebrüteten Eiern von dysgammaglobulinämischen (Dys) und normogammaglobulinämischen (No) Elterntieren im Vergleich zu Kontrollen (Ko)

 unbebrütet  14. Brutttag

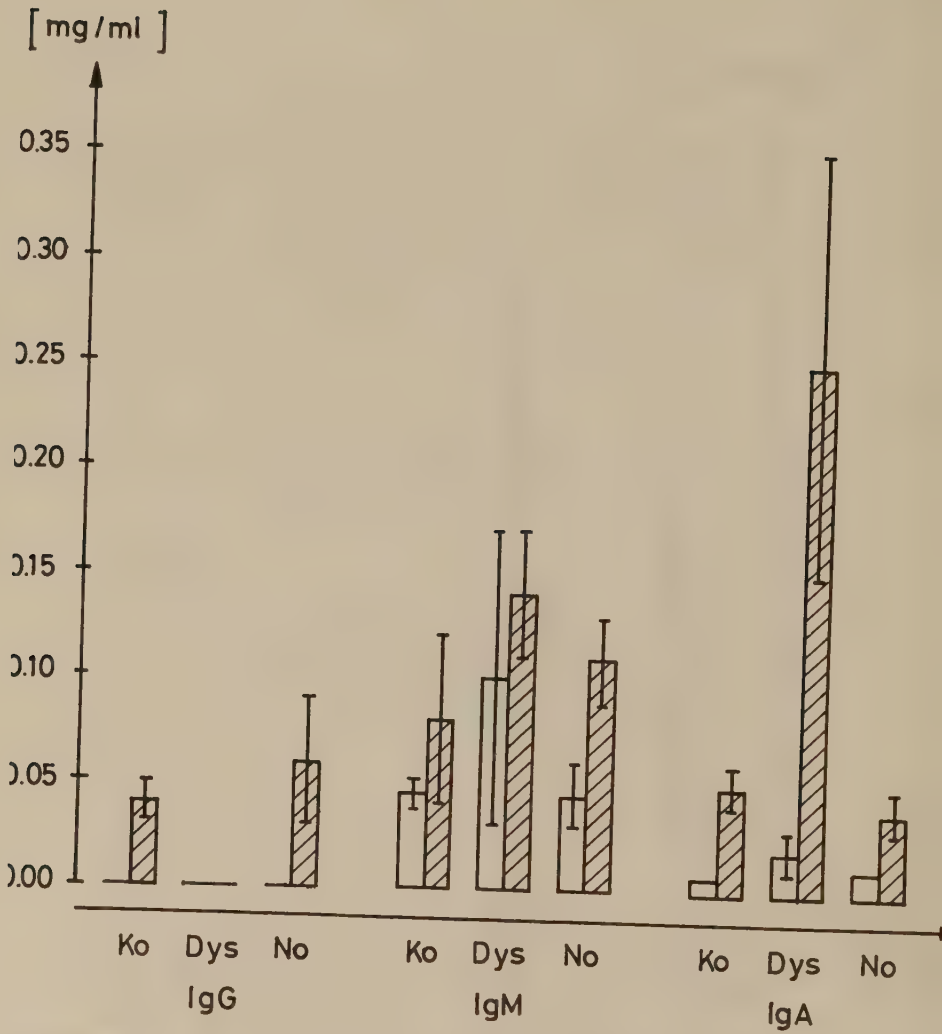


Abb.7: Immunglobulinkonzentrationen im Eiklar von unbebrüteten und 14 Tage bebrüteten Eiern von dysgammaglobulinämischen (Dys) und normogammaglobulinämischen (No) Elterntieren im Vergleich zu Kontrollen (Ko)

 unbebrütet  14. Bruttage

3.3.5.3. Eintagsküken

Da beim geschlüpften Küken Amnion- und Allantoisflüssigkeit nicht mehr zu gewinnen sind und auch das Eiklar vollständig resorbiert ist, mußten die Messungen beim Eintagsküken auf Serum und Dottersack beschränkt werden.

Kontrolltiere

Der IgG-Gehalt im Dottersack ist seit dem 14. Bruttag wieder abgefallen und beträgt jetzt nur noch 2,46 mg/ml.

Beim Eintagsküken sind im Gegensatz zum 14. Bruttag im Dottersack auch IgM und IgA zu finden.

Die Konzentrationen betragen (Abb. 8):

0,34 mg/ml für IgM

0,11 mg/ml für IgA

Im Eintagskükenserum ist IgG das einzige Immunglobulin; es kommt in einer Konzentration von 3,1 mg/ml vor. Die anderen beiden Immunglobuline sind hier nicht nachzuweisen.

Küken dysgammaglobulinämischer Elterntiere

Bei einigen der untersuchten Eintagsküken ließ sich IgG im Dottersack nachweisen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß das bereits im unbebrüteten Ei vorhandene IgG durch Einengungsvorgänge im Dotter nun höher konzentriert vorliegt und somit die untere Nachweisgrenze überschritten hat.

Wie bei den Kontrollen läßt sich auch hier IgM im Dottersack nachweisen. Der Gehalt von 0,31 mg/ml entspricht den Kontrolltieren.

IgA, das am 14. Bruttag nur bei dieser Tiergruppe nachgewiesen werden konnte, tritt beim Eintagsküken in einer von 0,14 mg/ml auf 0,42 mg/ml erhöhten Konzentration auf (Abb.8).

Im Serum von Eintagsküken, die von dysgammaglobulinämischen Elterntieren abstammen, sind außer dem in manchen Proben nachweisbaren IgG keine weiteren Immunglobuline zu finden. Bei den Küken, bei denen IgG im Serum auftritt, entspricht dessen Konzentration (0,23 mg/ml) vollkommen der im Dottersackinhalt.

Küken normogammaglobulinämischer Elterntiere

Ähnlich wie bei den Kontrollen ist auch bei dieser Tiergruppe die IgG-Konzentration im Dotter seit dem 14. Bruttag wieder abgefallen. Sie beträgt jetzt 3,8 mg/ml.

Auch bei Eintagsküken normogammaglobulinämischer Elterntiere kann IgM im Dottersack nachgewiesen werden, wobei die Konzentration von 0,27 mg/ml etwas unter der der Kontrollen liegt.

Der IgA-Spiegel von 0,06 mg/ml ist der niedrigste unter den drei Tiergruppen (Abb.8).

Im Serum ist der IgG-Spiegel mit 4,25 mg/ml deutlich höher als bei den Kontrollen. IgM und IgA sind auch hier im Serum nicht nachweisbar.

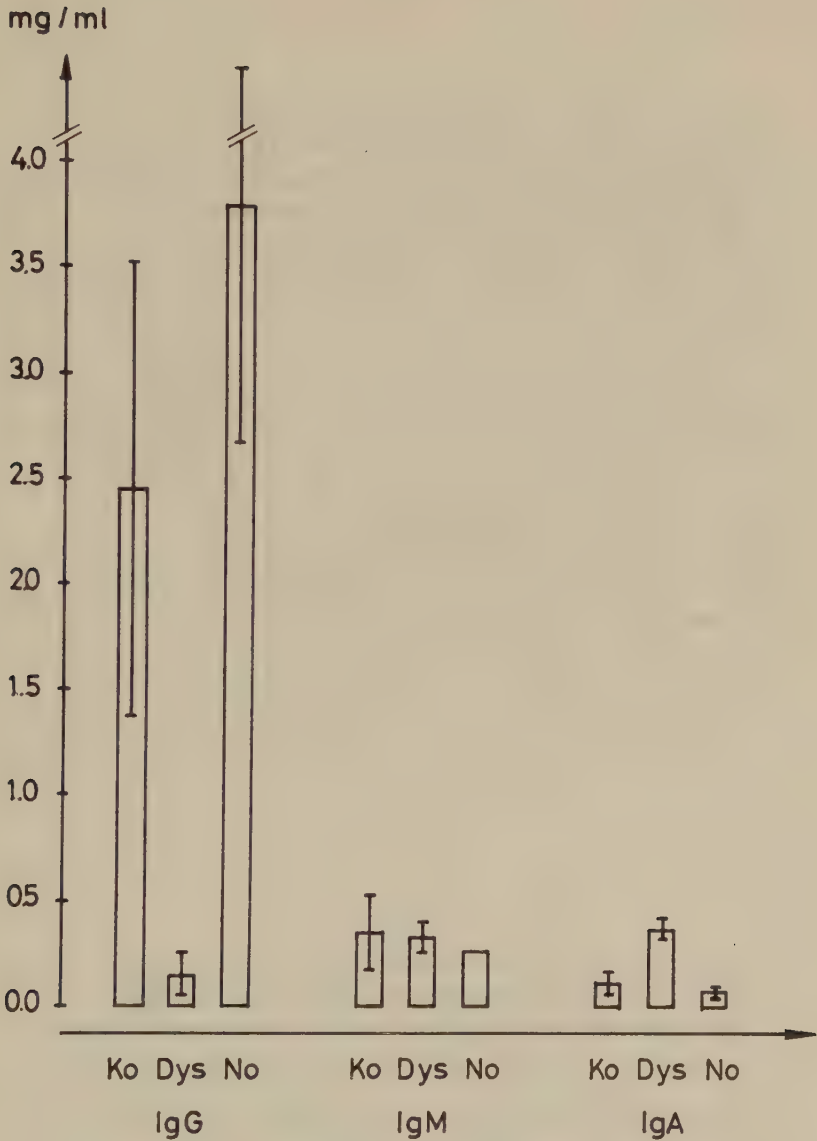


Abb. 8: Immunglobulinkonzentrationen im Dottersack von Eintagsküken, die von dysgammaglobulinämischen (Dys) und normogammaglobulinämischen Elterntieren abstammen, im Vergleich zu Kontrollen (Ko)

Überblick über die Immunglobulinkonzentrationen in den untersuchten Körpersekreten und im Ei bei dysgammaglobulinämischen (Dys), normogammaglobulinämischen (Normo) und bei Kontrolltieren (Ko):
(Alle Angaben in mg/ml)

Serum

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	4,96	0,96	0,05	0,07	8,44	2,16
IgM	1,36	0,60	4,30	1,50	2,82	1,04
IgA	0,36	0,09	0,67	0,29	0,60	0,20
n	8		15		8	

Galle

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	0,09	0,03	<0,01		0,11	0,03
IgM	0,54	0,80	3,13	0,81	1,26	1,24
IgA	6,72	2,28	12,20	8,4	4,18	1,72
n	5		11		8	

Darm

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	0,019	0,017	<0,01		0,14	0,10
IgM	<0,01		<0,01		<0,01	
IgA	1,33	0,40	2,62	1,47	1,21	0,24
n	8		15		8	

Tränenflüssigkeit

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	1,55	0,58	<0,01		1,31	1,04
IgM	0,59	0,15	1,34	0,35	1,05	0,26
IgA	0,31	0,10	1,55	0,40	0,76	0,05
n	4		5		5	

unbebrütetes Ei, Eidotter

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	2,93	0,20	<0,01		3,31	0,16
IgM	<0,01		<0,01		<0,01	
IgA	<0,005		0,11	0,01	0,10	0,04
n	4		6		5	

unbebrütetes Ei, Eiklar

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	<0,01		<0,01		<0,01	
IgM	0,04	0,009	0,10	0,07	0,04	0,01
IgA	0,008	0,001	0,02	0,01	0,01	0,002
n	4		6		5	

14 Tage bebrütetes Ei, Eidotter

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	3,95	1,13	<0,01		5,70	1,9
IgM	<0,01		<0,01		<0,01	
IgA	<0,005		0,145	0,05	<0,005	
n	6		6		6	

14 Tage bebrütetes Ei, Eiklar

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	0,04	0,01	<0,01		0,06	0,03
IgM	0,08	0,04	0,14	0,03	0,11	0,02
IgA	0,05	0,01	0,25	0,1	0,04	0,01
n	6		6		6	

Eintagsküken, Dottersack

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	2,46	1,09	0,15	0,11	3,80	1,10
IgM	0,34	0,17	0,31	0,09	0,27	0,005
IgA	0,11	0,06	0,42	0,06	0,06	0,03
n	5		6		5	

Eintagsküken, Serum

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	3,1	0,05	<0,01		4,25	0,19
IgM	<0,01		<0,01		<0,01	
IgA	<0,005		<0,005		<0,005	
n	5		6		5	

14 Tage bebrütetes Ei, Amnionflüssigkeit

	Ko		Dys		Normo	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
IgG	0,02	0,02	<0,01		0,03	0,01
IgM	0,07	0,04	0,10	0,04	0,14	0,01
IgA	0,02	0,01	0,05	0,01	0,02	<0,01
n	6		3		4	

Eine wichtige Rolle bei der Polymerisierung des Immunglobulins IgA spielt die J-Kette, eine Polypeptidkette mit geringem Kohlehydratanteil, die die IgA-Monomere über Disulfidbrücken miteinander verbindet. Ferner spielt die J-Kette auch eine Rolle bei der Bindung der sogenannten Sekretkomponente (siehe Abb. 9).

Die Sekretkomponente ist ebenfalls ein Glykoprotein; sie ist über kovalente und nicht kovalente Kräfte an den Fc-Abschnitt des IgA gebunden und besitzt folgende Aufgaben:

- Sie ist auf der der Basalmembran zugewandten Seite der Mucosazelle lokalisiert und dient als spezifischer Rezeptor von IgA-Polymeren (Kühn and Kraehenbuhl, 1979, Crago et al., 1978).

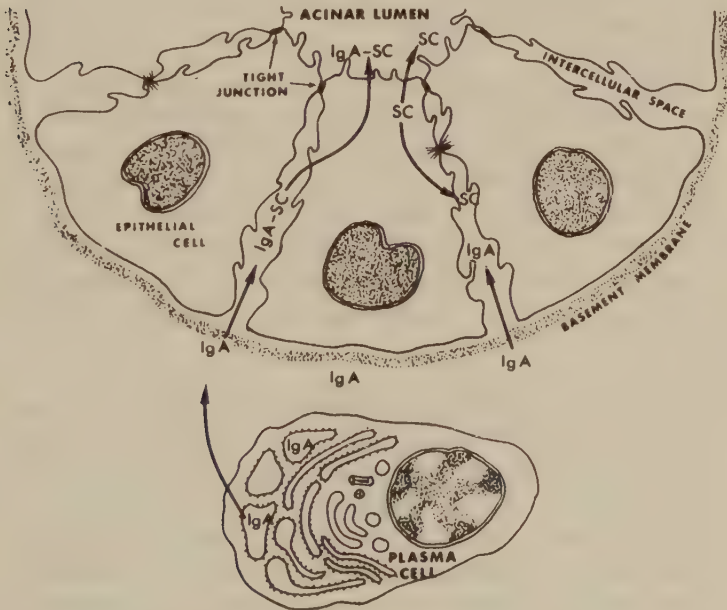


Abb. 10: Schematische Darstellung der Sekretion von IgA mit Hilfe der Sekretkomponente (Franklin et al., 1973) am Beispiel der menschlichen Tränendrüse

- Sie ermöglicht einen transzellulären pinozytose-artigen Transport und damit eine Sekretion von IgA in das betreffende Körpersekret. Hier dient die Sekretkomponente als Transportvehikel (Abb. 10) (Reynolds et al., 1980).
- Die Sekretkomponente schützt die sezernierten IgA-Moleküle vor proteolytischer Zersetzung.

Beim Huhn wurde bisher nur im Darminhalt die Sekretkomponente in freier Form nachgewiesen, d.h. in einer nicht an IgA gebundenen Form. Beim Menschen liegen solche Beobachtungen auch für andere Körpersekrete vor. Die Bedeutung dieses Phänomens liegt möglicherweise in der Stabilisierung der Bindung zwischen IgA und der Sekretkomponente (Jerry et al., 1975). Während das IgA und die J-Kette in den Plasmazellen synthetisiert werden, wird die Sekretkomponente in den Epithelzellen produziert.

Schon 1972 zeigten Bienenstock et al., daß sich Serum-IgA vom Huhn mit isolierter Sekretkomponente vom Menschen verbindet, was ein Hinweis auf einen weitgehend gleichen Aufbau der Sekretkomponente bei Huhn und Mensch ist. Auch bei verschiedenen anderen Säugetieren wies die physikochemische Charakterisierung der Sekretkomponente ähnliche Eigenschaften auf wie beim Menschen. (Underdown and Socken, 1978).

Obwohl eine japanische Forschergruppe die Sekretkomponente beim Huhn bis jetzt nur im Darmsekret nachgewiesen hat (Watanabe and Kobayashi, 1974, Watanabe et al., 1975, Yamamoto et al., 1975), ist es doch wahrscheinlich, daß die Sekretkomponente auch in anderen Körpersekreten wie in der Gallenflüssigkeit und im Eileitersekret auftritt (Bienenstock et al., 1973b; Parry and Porter, 1978).

Dafür sprechen sowohl die Befunde bei anderen Tierarten, als auch der gemeinsame embryologische Ursprung von Gallenblase und Darm aus dem Endoderm.

Das Serum

Während in der vorliegenden Untersuchung die IgG-Konzentration der HNL-Kontrolltiere mit 4,96 mg/ml bestimmt wurde, finden Leslie et al. (1976) 5 mg/ml und Lebacq-Verheyden and Ritter (1979) 5,50 mg/ml.

Die IgA-Werte von 0,36 mg/ml (eigene Untersuchung), 0,35 mg/ml (Leslie et al., 1976) und 0,37 mg/ml (Lebacq-Verheyden et al., 1974) sind fast identisch.

Die IgM-Konzentrationen von 1,36 mg/ml (eigene Untersuchung), >1,25 mg/ml (Leslie et al., 1976) und 2,55 mg/ml (Lebacq-Verheyden et al., 1974) variieren etwas stärker.

Das Gallensekret

Bei den Immunglobulinkonzentrationen des Gallensekretes ist auffallend, daß die normogammaglobulinämischen Tiere einen niedrigeren IgA-Spiegel als die Kontrollen aufweisen, obwohl der Serumspiegel fast um das Doppelte erhöht ist. Das ist ein eindeutiger Hinweis darauf, daß das IgA nicht nur passiv vom Serum in die Galle übertritt.

1976 wurde von Leslie et al. durch in vitro-Versuche die Synthese von IgA und auch von IgG und IgM durch die Gallenblasenwand nachgewiesen. Rose et al. (1981) fanden durch in vivo-Versuche mit Gallengangsdrainagen, daß ein Teil des IgA der Galle dem Serum entstammt, der größte Anteil dagegen durch die Gallenblasenwand gebildet wird.

Da die IgA-Produktion der normogammaglobulinämischen Tiere in anderen Körperprodukten, wie zum Beispiel im Tränensekret oder im Eidotter, durchaus mit der der dysgammaglobulinämischen Tiere zu vergleichen ist und ferner auch der IgM-Gehalt dem erhöhten Serumwert entspricht, ist eine Verminderung der IgA-produzierenden Plasmazellen oder eine Störung der Regulationsmechanismen speziell in der Gallenblasenwand sehr unwahrscheinlich. Vielmehr wäre an eine Sekretionsstörung zu denken, die durch einen Mangel an Sekretkomponente verursacht sein könnte, oder durch die Unfähigkeit vorhandener Sekretkomponente, sich physiologisch mit IgA zu verbinden (McClelland et al., 1976). Da die Sekretkomponente die Voraussetzung dafür ist, daß IgA die Epithelzellen durchdringen kann, wird sich ein Mangel an Sekretkomponente in einem erniedrigten IgA-Spiegel im Gallensekret ausdrücken.

Über den Gehalt des Gallensekrets an IgG und IgM gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben. So weisen Watanabe et al. (1975) IgM und IgA nach, Leslie et al. (1976) IgA und IgG, während Katz et al. (1974) nur IgA in der Galle finden. Alle drei Immunglobulin-klassen wurden durch Bienenstock et al. (1973b) und durch Lebacqz-Verheyden et al. (1974) nachgewiesen.

Auch die quantitativen Angaben variieren erheblich:

	IgG	IgM	IgA
eigene Untersuchung	0,09	0,54	6,72
Leslie et al., (1971)	0,03	n.e.	>0,8
Leslie et al., (1976)	n.d.	n.d.	12,0
Lebacqz-Verheyden et al., (1974)	0,20	0,28	3,15

n.d.= nicht durchgeführt

n.e.= nicht erfaßbar

Angaben in mg/ml

Die wichtigste Ursache für diesen großen Streuungsbereich dürften unterschiedliche Präparationstechniken sein.

Der Darminhalt

Auch über den Immunglobulingehalt des Darminhalts gibt es in der Literatur unterschiedliche Angaben sowohl qualitativer als auch quantitativer Art: (Angaben in mg Immunglobulin/ml Darminhalt)

	IgG	IgM	IgA
eigene Untersuchung	0,019	<0,01	1,33
Watanabe et al.(1975)	n.e.	n.e.	+
Lebacqz-Verheyden et al.(1974)	0,61	<0,01	1,66
Leslie et al.(1971)	0,08	n.e.	0,1
		n.e. = nicht erfaßbar	
		+ = qualitativ erfaßt	

Obwohl Bienenstock et al. (1973a) durch Versuche mit ¹⁴C-markierten Aminosäuren die Produktion von IgM durch die Darmschleimhaut nachwies und durch Immunfluoreszenz viele IgM-produzierende Zellen in der Darmmucosa sichtbar machte, konnte von keinem Autor IgM im Darminhalt gefunden werden. Offenbar wird das hier produzierte IgM ins Blut und nicht ins Darmlumen abgegeben. Auch die erhöhten Serum-IgM-Spiegel der UM-B19-Tiere führen zu keiner erfaßbaren IgM-Konzentration im Darmlumen.

Hingegen ist bei den Kontrollen und bei den dysgamma-globulinämischen Tieren der IgA-Spiegel im Darminhalt und in der Gallenflüssigkeit um den gleichen Faktor höher als im jeweiligen Serum. Das bedeutet, daß die Immunglobulinkonzentrationen in Serum, Gallenflüssigkeit und Darminhalt offenbar durch den gleichen Regulationsmechanismus kontrolliert werden. Das wird auch dadurch deutlich, daß IgG im Darmsekret bei den dys-

gammaglobulinämischen Tieren unter der Erfassbarkeitsgrenze liegt und bei den normogammaglobulinämischen Tieren in erhöhter Konzentration vorliegt.

Herlyn et al. (1977) weisen als Ursache für den IgG-Mangel dysgammaglobulinämischer Hühner einen hochgradigen IgG-Synthesedefekt nach; ein beschleunigter Abbau des Immunglobulins konnte ausgeschlossen werden, da die biologische Halbwertszeit nicht signifikant verändert ist (4,3 gegenüber 3,3 Tagen).

Der IgA-Spiegel der normogammaglobulinämischen Tiere weist im Darm die gleichen Unterschreitungen der Kontrollwerte wie in der Galle auf. Die möglichen Ursachen wurden dort bereits diskutiert.

Das Tränensekret

Zwischen den IgG-, IgM- und IgA-Konzentrationen in Serum, Darminhalt und Gallenflüssigkeit sind bei allen drei Tiergruppen mehr oder weniger deutliche Korrelationen nachweisbar, abgesehen von IgA bei normogammaglobulinämischen Tieren. In der Tränenflüssigkeit sind solche Beziehungen nicht vorhanden. Daher darf bei der Besprechung des Tränensekrets die Hardersche Drüse nicht unbeachtet gelassen werden. Sie sitzt hinter dem Augapfel in der Orbita und weist histologisch das gleiche spezifische Epithel auf wie die beiden anderen lymphoepithelialen Organe, der Thymus und die Bursa Fabricii (Niedorf et al., 1974). Beim adulten Tier stellen in der Harderschen Drüse die Plasmazellen zahlenmäßig den größten Anteil der lymphatischen Zellen dar. T-Lymphozyten sind nur selten zu finden (Glick et al., 1977). Mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz und H-Kettenspezifischen Antiseren wurde nachgewiesen, daß beim adulten Tier die meisten Plasmazellen der Harderschen Drüse mit dem Anti-IgA-Serum reagierten, eine mittlere Anzahl mit Anti-IgG und nur wenige

mit Anti-IgM (Albini et al., 1974). Allerdings kamen Bienenstock et al. (1973a) zu abweichenden Ergebnissen. Hier reagierten die meisten Zellen mit Anti-IgM, eine geringere Anzahl mit Anti-IgG und nur wenige mit Anti-IgA.

Obwohl in der Literatur die Konzentrationsangaben für Immunglobuline im Tränensekret etwas differieren (Kowalski et al., 1978, Lebacqz-Verheyden et al., 1974), ist es doch unbestritten, daß das häufigste Immunglobulin IgG ist, gefolgt von IgM und IgA. Das steht in Widerspruch zu der eben erwähnten Zuordnung der Plasmazellen der Harderschen Drüse zu den einzelnen Immunglobulingruppen; also scheint neben der Immunglobulinproduktion durch die Hardersche Drüse auch der Transport von Immunglobulinen vom Blut in das Tränensekret eine Rolle zu spielen.

Während das Immunglobulinverteilungsmuster der normogammaglobulinämischen Tiere in etwa dem der Kontrollen entspricht, stellt bei den dysgammaglobulinämischen Tieren IgA das häufigste Immunglobulin dar, gefolgt von IgM. Außerdem liegt die IgA-Konzentration der Tränenflüssigkeit deutlich über der des Serums, was auch bei den normogammaglobulinämischen Tieren andeutungsweise der Fall ist. Dieser Befund kann als Hinweis für eine mögliche Eigensynthese von IgA durch die Hardersche Drüse betrachtet werden, was die Ergebnisse von Albini et al. (1974) bestätigen würde.

Diese Arbeitsgruppe konnte ferner Immunglobuline zwischen den Epithelzellen nachweisen. Da die Hardersche Drüse, wie bereits erwähnt, das gleiche spezifische Epithel wie die lymphoepithelialen Organe Thymus und Bursa aufweist, ist es wahrscheinlich, daß hier die Sekretion von IgA nicht wie in anderen

Drüsen von der Sekretkomponente abhängig ist. Außerdem ist die Sekretkomponente, wie Watanabe et al. (1975) zeigen konnten, im Tränensekret nicht nachweisbar. Die Verbindung der Epithelzellen der Harderschen Drüse durch Desmosomen und das Fehlen von 'tight junctions', welche zum Beispiel in der menschlichen Tränendrüse (Franklin et al., 1973) den Transport von Immunglobulinen durch die Epithelzelle hindurch in Verbindung mit der Sekretkomponente notwendig machen, ermöglicht in der Harderschen Drüse wahrscheinlich einen anderen Sekretionsmechanismus. Dadurch scheint bei den normogammaglobulinämischen Tieren trotz des im Abschnitt 'Galle' diskutierten Mangels an Sekretkomponente eine über den Kontrollwerten liegende Konzentration an IgA im Tränensekret möglich zu sein.

Das unbebrütete Ei

Wie bereits im Abschnitt 3.3.5. beschrieben wurde, war es nicht möglich, die Immunglobulingehalte von Eiklar und Dotter ohne vorhergehende Präparation der Proben zu bestimmen. Somit können präparationsbedingte Beeinflussungen der erhobenen Befunde nicht ausgeschlossen werden. Da aber alle Proben demselben Verfahren unterzogen wurden, sind zumindest gleichsinnige Beeinflussungen bei allen Proben zu erwarten.

Schon Heller (1975) hat festgestellt, daß die von derselben Henne an aufeinanderfolgenden Tagen gelegten Eier zum Teil stark schwankende Antikörperkonzentrationen aufwiesen. Vielleicht lassen sich durch diese

physiologischen Schwankungen im Immunglobulingehalt des Eies die teilweise erheblichen Differenzen im Immunglobulingehalt der einzelnen Proben erklären. Sie sind aber nicht für die erheblichen Unterschiede verantwortlich zu machen, die zu den Meßwerten von Rose et al. (1974) bestehen. Diese Autoren berichten von einer IgG-Konzentration im Dotter von 20-25 mg/ml und im Eiklar von einer IgM-Konzentration von 0,15 mg/ml und bei IgA von 0,7 mg/ml. Selbst wenn in Betracht gezogen wird, daß sie mit immunisierten Hühnern arbeiteten, ist die große Differenz nur durch die nicht einfache Präparation und durch die Zurückrechnung auf den Immunglobulingehalt des unbearbeiteten Dotters bzw. Eiklars erklärbar.

Ein Indiz für die Korrektheit der vorliegenden Messungen ist die Tatsache, daß trotz extrem erhöhter Serum-Immunglobulinspiegel bei dysgammaglobulinämischen Tieren die eigenen Meßwerte der Immunglobulinkonzentrationen im Ei weit unter denen von Rose et al. (1974) liegen.

Ferner sind die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit Messungen an Truthühneiern vergleichbar (Goudswaard et al., 1978).

Dotter

	IgG	IgM	IgA
eigene Messung (Kontrolltiere)	2,93	n.e.	n.e.
Rose et al. (1974)	20-25	n.e.	n.e.
Goudswaard et al. (1978)	2-6	n.e.	n.e.

Eiklar

	IgG	IgM	IgA
eigene Messung (Kontrolltiere)	n.e.	0,044	0,008
Rose et al. (1974)	n.e.	0,15	0,7
Goudswaard et al. (1978)	n.e.	0,024	0,034

n.e. = nicht erfaßbar
alle Angaben in mg/ml

Außer diesen quantitativen Angaben liegen nur qualitative Bestimmungen der Immunglobuline im Ei vor. Neben Yamamoto et al. (1975), die durch 10-fache Konzentrierung des Untersuchungsmaterials sowohl im Dotter als auch im Eiklar alle drei Immunglobulinklassen nachwiesen, konnte von anderen Autoren im Eiklar nur IgM und IgA und im Dotter nur IgG nachgewiesen werden (Kramer und Cho, 1969, Malkinson, 1965, Ewert et al., 1979).

Im Gegensatz dazu findet sich im Dotter der UM-B19-Tiere ebenfalls IgA. Von Patterson et al. (1962) wurde die Übertragung von Antikörpern vom Serum in den Eifollikel nachgewiesen und die Abhängigkeit des Antikörperspiegel des Eies vom Serum-Antikörperspiegel dargestellt. Bei den UM-B19-Tieren ermöglichen die gegenüber der Norm erhöhten Serum-IgM- und IgA-Spiegel offensichtlich den Übertritt von IgA, aber nicht von IgM, in den Follikel. Somit scheint der Übergang von Immunglobulinen vom Blut in den Follikel zumindest teilweise von der Serumkonzentration abhängig zu sein und ist deshalb nicht ausschließlich als selektiver Transport nur von IgG durch das Follikel-epithel zu betrachten.

Der 14. Bruttag

Die Ursache für die Steigerung der Immunglobulinspiegel in Dotter und Eiklar am 14. Bruttag liegt in Konzentrierungsvorgängen durch Wasserentzug und damit verbundener allgemeiner Erhöhung der Trockensubstanz. Das IgG, das jetzt im Eiklar erfaßbar ist, ist aus dem Dotter hinüberdiffundiert; Kramer und Cho (1969) haben bereits am 4. Bruttag IgG und andere Dotterproteine im Eiklar nachgewiesen. Hamilton (1952) zeigt

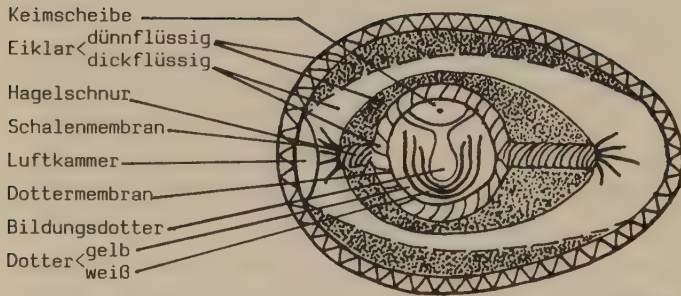


Abb. 11: Schematische Darstellung eines unbebrüteten Hühnereies (modifiziert nach Siegmann et al., (1983))

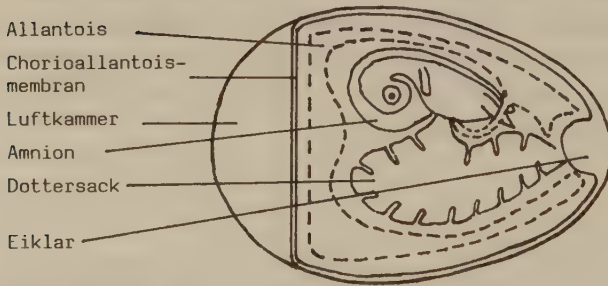


Abb. 12: Schematische Darstellung eines 14 Tage bebrüteten Hühnereies

te, daß Dotter und Eiklar nur bis zum 4. Bruttag durch die intakte Dottermembran vollständig voneinander getrennt sind. Am 11. Bruttag öffnet sich eine Verbindung zwischen Eiklar und Amnion, so daß Immunglobuline ins Amnion hinüberdiffundieren und am 14. Bruttag in einer nur wenig unter dem Eiklar liegenden Konzentration nachgewiesen werden können (Abb.12).

Das Eintagsküken

Beim Eintagsküken liegt der IgG-Spiegel im Dottersack wieder niedriger als am 14. Bruttag, da IgG aus dem Dottersack ins Serum übergetreten ist. Der IgA-Spiegel im Dottersack dysgammaglobulinämischer Küken ist weiter gestiegen, da dieses Immunglobulin nicht ins Serum aufgenommen wird und sich deshalb im Dotter anreichern kann. Offenbar ermöglicht auch die erhöhte IgA-Konzentration der UM-B19-Tiere nicht den Übertritt dieses Immunglobulins ins Serum. Da also die Küken dysgammaglobulinämischer Elterntiere so gut wie keine Immunglobuline im Serum besitzen, bis die Eigensynthese einsetzt, sind sie während dieser Zeit besonders krankheitsanfällig. Ohne Tylosinprophylaxe sind hohe Ausfälle zu verzeichnen.

Auch im Dottersack immunologisch intakter Eintagsküken sind IgM (Lösch und Schumacher, 1971) und IgA nachweisbar. Diese beiden Immunglobuline werden aus dem Eiklar in den Dottersack aufgenommen, nachdem sich am 12.-13 Bruttag die Dottermembran vollständig aufgelöst hat (Hamilton, 1952) und sich Dotter und Eiklar vermischen können. Diese Immunglobuline werden dann allerdings nicht vom Dottersackepithel resorbiert, sondern verbleiben im Dotter. Dieser wird

während der ersten Lebenstage des Kükens durch ein in der Dottersackwand neu gebildetes Myoepithel durch den Dottersackstiel hindurch in den Darm gepreßt (Jordanov und Anastassova-Kristeva, 1963), wo IgM und IgA eine lokale Schutzfunktion ausüben können; sie werden durch das Darmepithel nicht resorbiert, was für IgM von Ziegelmaier (1969) experimentell nachgewiesen wurde.

Der Immunglobulingehalt des Eies

Wenn man aus der Immunglobulinkonzentration und der Menge des jeweiligen Produktes (Dotter, Eiklar, Amnionflüssigkeit) die Gesamtmenge an Immunglobulinen im Ei bestimmt, kann man den Immunglobulingehalt des unbebrüteten mit dem des bebrüteten Eies und des Eintagskükens vergleichen und feststellen, ob die Gesamtmengen gleichgeblieben sind oder sich verändert haben. Wirklich vergleichbar sind diesbezüglich nur Eier derselben Henne. Es ergibt sich, daß die IgG-Menge in zunehmendem Maße abfällt, während die IgM-Menge bis zum 14. Tag abnimmt und dann wieder ansteigt. IgA bleibt über den gesamten Entwicklungszeitraum hinweg ungefähr konstant. Diese Charakteristik trifft für alle drei untersuchten Tiergruppen zu.

Zellen mit Immunglobulin-Oberflächendeterminanten wurden schon in frühen Entwicklungsstadien beim Hühnerembryo nachgewiesen:

Schon am 5. Bruttag reagieren wenige Dottersackzellen mit Anti-IgA, mit wachsender Bebrütungsdauer steigt die Zahl der reagierenden Zellen. In der Bursa Fabricii sind mit Anti-IgA und Anti-IgM reagierende Zellen ab dem 10. Bruttag nachweisbar, mit Anti-IgG reagierende ab dem 16. Tag (Albini and Wick, 1976).

Lebacqz-Verheyden und Ritter (1979) weisen in der Bursa Fabricii Zellen mit membrangebundenem IgA am 11. Bruttag und mit IgM und IgG am 13. Bruttag nach.

Durch Radioimmunelektrophorese zeigten Reade et al. (1965) die Synthese von Proteinen mit den elektrophoretischen und antigenen Eigenschaften der γ -Globuline ab dem 14. Bruttag.

Marinkovich und Baluda (1966) zeigten durch in vitro-Versuche die Synthese von einem IgM-ähnlichen γ -Globulin, und Thorbecke et al. (1968) bewiesen durch in vitro-Versuche die IgM-Synthese durch Bursazellen am 18. Bruttag.

Diese Befunde verschiedener Autoren beweisen letztlich nicht die Synthese größerer Immunglobulinmengen im bebrüteten Hühnerei. Durch die in dieser Arbeit nachgewiesene Steigerung des IgM-Gehaltes im Ei nach dem 14. Bruttag werden diese Hinweise auf eine Immunglobulinproduktion im Hühnerei jedoch weiter unterstützt.

5. Zusammenfassung

Mit Hilfe der Rocket-Immunoelektrophorese wurden die Konzentrationen von IgG, IgM und IgA

- im Serum und in verschiedenen Körperflüssigkeiten bei adulten Tieren
- im unbesetzten und 14 Tage besetzten Ei im Eidotter (bzw. Dottersack), Ektar, Amnion und Allantois
- und beim Entlasskucken im Dottersack und Serum

untersucht, jeweils bei Tieren der NM-Bio-Linie und bei HNL-Kontrolltieren.

Die Werte von Sys- und normogammaglobulinämischen Tieren der Linie NM-Bio werden mit denen der Kontrolltiere verglichen.

Die Serumkonzentrationen der Kontrolltiere von IgG (4,95 mg/ml), IgM (1,35 mg/ml) und IgA (0,35 mg/ml) werden von den normogammaglobulinämischen Tieren in unterschiedlichem Umfang überschritten; der Sys-gammaglobulinämischen Tieren fehlt IgG fast vollständig, während die IgM- und IgA-Konzentrationen die höchsten der drei untersuchten Tiergruppen sind.

In Gallenflüssigkeit und Darminhalt liegt IgA bei allen drei Tiergruppen in der höchsten Konzentration vor. Die Kontrollwerte von 5,71 mg/ml (Galle) und 1,33 mg/ml (Darm) werden von den Sysgammaglobulinämischen Tieren stark über-, von den normogammaglobulinämischen Tieren unterschritten.

IgG kommt in beiden Körperprodukten bei Kontrollen und normogammaglobulinämischen Tieren in geringen Konzentrationen vor.

In der Gallenflüssigkeit ist IgM bei allen drei Tiergruppen erfaßbar. Die IgM-Konzentration der Kontrolltiere von 0,54 mg/ml wird von den UM-B19-Tieren erheblich übertroffen.

Im Darminhalt fehlt IgM vollständig.

In der Tränenflüssigkeit ist IgG bei Kontroll- und normogammaglobulinämischen Tieren das am stärksten und IgA das am wenigsten konzentrierte Immunglobulin. Bei den dysgammaglobulinämischen Tieren liegt bei fehlendem IgG das IgA im Vergleich zu IgM stärker konzentriert vor.

Im Dotter des nicht bebrüteten Eies immunologisch intakter Hühner ist nur IgG (2,93 mg/ml) nachweisbar. Im Gegensatz dazu ist bei Eiern von UM-B19-Tieren zusätzlich IgA (0,1 mg/ml) im Dotter erfaßbar. IgG fehlt im Dotter dysgammaglobulinämischer Tiere.

Im Eiklar sind zwischen Kontroll- und UM-B19-Eiern keine qualitativen Unterschiede bezüglich des Immunglobulinmusters festzustellen.

Beim 14 Tage bebrüteten Ei sind in Eiklar und Dotter die Konzentrationen der bereits im unbebrüteten Ei vorhandenen Immunglobuline angestiegen, zusätzlich ist bei Eiern von Kontroll- und normogammaglobulinämischen Tieren IgG im Eiklar nachzuweisen.

Im Amnion sind im Gegensatz zur Allantoisflüssigkeit nach dieser Bebrütungsdauer bei allen drei Tiergruppen Immunglobuline bestimmbar.

Bei Eintagsküken von Kontrollen und normogammaglobulinämischen Elterntieren, auch bei Küken dysgammaglobulinämischer Elterntiere, sind im Dottersack alle drei Immunglobulinklassen zu finden.

Im Eintagskükenserum stellt IgG das einzige Immunglobulin dar; im Serum von Eintagsküken dysgammaglobulinämischer Eltern sind keine Immunglobuline zu erfassen.

6. Summary

Immunoglobulin concentrations in serum, various body fluids, egg and embryo of the domestic fowl

The concentration of IgG, IgM and IgA was investigated in UM-B19-line and in HNL control animals by rocket-immunoelectrophoresis

- in serum and various body fluids in mature animals,
- in unincubated and 14 days incubated eggs in the egg yolk (including yolk sac), egg white, amnion and allantois,
- and in one day old chicks in the yolk sac and in serum.

The values from dys- and normogammaglobulinemic animals of the UM-B19-line were compared with control animals.

The serum concentration in control animals of IgG (4,96 mg/ml), IgM (1,36 mg/ml) and IgA (0,36 mg/ml) were exceeded by those of normogammaglobulinemic animals by varying amounts. In dysgammaglobulinemic animals, IgG was almost completely absent, while the IgM and IgA concentrations were the highest of these groups investigated.

In the intestinal content and the gall, IgA showed the highest concentration of immunoglobulin in all three groups. The control values of 6,72 mg/ml (gall) and 1,33 mg/ml (intestine) were greatly exceeded by the dysgammaglobulinemic animals, while the normogammaglobulinemic animals showed slightly lower values.

IgG is found in small amounts in both fluids in the control and the normogammaglobulinemic animals.

IgM is found in the gall of all three groups and is completely lacking in the intestinal content.

In the lacrimal fluid of the control and the normogammaglobulinemic animals, IgG shows the highest and

IgA the lowest concentration of the immunoglobulins. In the dysgammaglobulinemic animals, lacking IgG, the IgA shows higher concentrations than IgM.

In the egg yolk from immunologically intact chickens, only IgG (2,93 mg/ml) is found. By contrast, in the eggs of UM-B19-animals, IgA (0,1mg/ml) is also found in the yolk. IgG is lacking in the yolk of dysgammaglobulinemic animals.

In the egg white, no qualitative differences in the immunoglobulin pattern were found between the control and UM-B19-eggs.

In the 14 days incubated eggs, the concentrations are increased above those found in the yolk and white of unincubated eggs. Furthermore, IgG is found in the egg white of eggs from control and normogammaglobulinemic animals.

In the amnion, in contrast to the allantois fluid, immunoglobulins are found in all three animal groups at this stage of incubation.

In the yolk sacs of one day old chicks from control and normogammaglobulinemic parents, as well as in chicks from dysgammaglobulinemic parents, all three classes of immunoglobulins are found.

In the serum from one day old chicks, IgG is the only immunoglobulin present; in the serum of one day old chicks from dysgammaglobulinemic parents, no immunoglobulins are found.

7. Literaturverzeichnis

- Albini, B., Wick, G. Rose, E. and Orlans, E.
Immunoglobulin production in chicken
Harderian glands
Int. Arch. Allergy 47, 23 (1974)
- Albini, B. and Wick, G.
IgA surface determinants on cells from
the chicken embryo
In: Immune reactivity of lymphocytes
Plenum Publishing Corporation, New York (1976)
- Axelsen, N.H., Kroll, J. and Weeke, B.
A manual of quantitative immunoelectro-
phoresis
Universitetsforlaget, Oslo (1973)
- Bienenstock, J., Perey, D.Y.E., Gauldie, J. and
Underdown, B.J.
Chicken immunoglobulin resembling γ A
J. Immunol. 109, 403 (1972)
- Bienenstock, J., Gauldie, J. and Perey, D.Y.E.
Synthesis of IgG, IgA, IgM by chicken
tissues: immunofluorescent and ^{14}C amino
acid incorporation studies
J. Immunol. 111, 1112 (1973a)

Bienenstock, J., Perey, D.Y.E., Gauldie, J. and Underdown, B.J.

Chicken γ A: Physicochemical and immunochemical characteristics

J. Immunol. 110, 524 (1973b)

Bohner, H.J.

Biologische Halbwertszeit und Umsatz von Immunglobulin-G normaler und dysgammaglobulinämischer Haushühner
Dissertation, München (1977)

Bradford, M.M.

A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding
Anal. Biochem. 72, 248 (1976)

Burstein, M., Samaille, J.

Nouvelle méthode de séparation et de dosage des lipoproteins de faible densité
Ann. Biol. Clin. 24, (1959)

Chanh, T.C., Benedict, A.A., Tam, L.Q., Abplanalp, H. and Gershwin, M.E.

Inherited 7S immunoglobulin deficiency in chickens: Presence of suppressor T-cells that suppress synthesis of 7S immunoglobulin but not IgM
J. Immunol. 125, 108 (1980)

Crago, S.S., Kulhavy, R., Prince, S. and Mestecky, J.
Secretory component on epithelial cells is a surface receptor for polymeric immunoglobulins
J. Exp. Med. 22, 1832 (1978)

Ewert, D.L., Barger, B.O. and Eidson, C.S.

Local antibody response in chickens:
analysis of antibody synthesis to New-
castle disease virus by solid phase
radioimmunoassay and immunofluorescence
with class-specific antibody for chicken
immunoglobulins
Infect. Immunol. 24, 269 (1979)

Fiedler, H., Lösch, U., Hála, K.

Establishment of a B-compatible chicken
line with normogammaglobulinemia and
dysgammaglobulinemia
Folia biol. (Praha) 26, 17 (1980)

Franklin, R.M., Kenyon, K.R. and Tomasi, T.B.

Immunohistologic studies of human lacrimal
gland.
I. Localization of immunoglobulins, secre-
tory component and lactoferrin.
J. Immunol. 110, 984 (1973)

Glick, B., Subra, D.S.V., Stinson, R. and McDuffie, F.

Immunoglobulin-positive cells from the gland
of Harder and bone marrow of the chicken
Cell. Immunol. 31, 177 (1977)

Goudswaard, J., Noordzif, A., van Dam, R.H. and van der
Donk, J.A.

Quantification of turkey immunoglobulins
IgA, IgM and IgG in serum and secretions
Z. Immun. Forsch. 154, 238 (1978)

Hamilton, H.L.

Lillie's development of the chick.
An introduction to embryology.
Henry Holt, New York (1952)

Heller, E.D.

The immune response of hens to multiple
Escherichia coli injections and transfer
of immunoglobulins to the egg and hatched
chick

Research in Veterinary Science 18, 117 (1975)

Herlyn, D.M., Böhner, H.-J., Löscher, U.

IgG turnover in dysgammaglobulinemic
chickens.

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 358, 1169
S. 1169 (1977)

Jerry, L.M., Kunkel, H.G. and Adams, L.

Stabilization of dissociable
IgA2 proteins by secretory component
J. Immunol. 109, 275 (1975)

Jordanov, J. and Anastassova-Kristeva, M.

Über die Veränderungen des Dottersacks
nach dem Ausschlüpfen des Kükens im
Hinblick auf die Dotterresorption
Roux' Archiv für Entwicklungs-
mechanik 154, 216 (1963)

Katz, D., Kohn, A. and Arnon, R.

Immunoglobulins in the airway washings
and bile secretions of chickens
Eur. J. Immunol. 4, 494 (1974)

Kowalski, W.J., Malkinson, M., Leslie, G.A. and Small, P.

The secretory immunologic system of the
fowl VI. The effect of chemical bursecto-
my on immunoglobulin concentration
in tears
Immunology 34, 663 (1978)

Kramer, T.T. and Cho, H.C.

Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg
Immunology 19, 157 (1969)

Kühn, L.C. and Kraehenbuhl, J.-P.

Role of secretory component, a secreted glycoprotein, in the specific uptake of IgA dimer by epithelial cells
J. biol. Chem. 354, 11072 (1979)

Laurell, C.B.

Antigen-antibody crossed electrophoresis
Anal. Biochem. 10, 358 (1965)

Laurell, C.-B.

Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies
Anal. Biochem. 15, 45 (1966)

Lebacqz-Verheyden, A.-M., Vaerman, J.P. and Heremans, J.

Immunohistologic distribution of the chicken immunoglobulins
J. Immunol. 109, 652 (1972)

Lebacqz-Verheyden, A.-M., Vaerman, J.-P. and Heremans, J.

Quantification and distribution of chicken immunoglobulins IgA, IgM and IgG in serum and secretions
Immunology 27, 683 (1974)

Lebacqz-Verheyden, A.-M. and Ritter, M.A.

B-cell precursors in early
chicken embryos

Immunology 37, 123 (1979)

Leslie, G.A., Wilson, H.R. and Clem, L.W.

Studies on the secretory immunologic
system of fowl I. Presence of immuno-
globulins in chicken secretions

J. Immunol. 106, 1441 (1971)

Leslie, G.A., Stankus, R.P. and Martin, L.N.

Secretory immunological system of fowl
V. The gallbladder: an integral part of
the secretory immunological system
of fowl

Int. Archs Allergy appl. Immun. 51, 175 (1976)

Longenecker, B.N.

Persönliche Mitteilung (1981)

Lösch, U., Kühlmann, I., Klumpner, W. and Fiedler, H.

Course of Serum -Ig concentrations in
B12-chickens of the UM line

Immunobiol. 158, 416 (1981)

Lösch, U. und Schumacher, H.J.

Immunglobulin-M im Dottersackinhalt
von Hühnerküken

Abstracta, 3. Tagg. Ges. Immunol.,
Marburg (1971)

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J. and Farr, A.L.

Protein measurement with the folin
phenol reagent

J.Biol. Chem. 193, 265 (1951)

Malkinson, M.

The transmission of passive immunity to
Escherichia coli from mother to young
in the domestic fowl (Gallus domesticus)
Immunology 9, 311 (1965)

Mancini, G., Carbonara, A.O. and Heremans, J.F.

Immunochemical quantitation of antigens
by single radial immunodiffusion.

Immunochemistry 2, 235 (1965)

Marinkovich, V.A. and Baluda, M.A.

In vitro synthesis of γ M-like globulin
by various chick embryonic cells

Immunology 10, 383 (1966)

McClelland, D.B.L., Shearman, D.J.C. and van Furth, R.

Synthesis of immunoglobulin and sekre-
tory component by gastrointestinal
mucosa in patients with hypogamma-
globulinemia or IgA deficiency

Clin. exp. Immunol. 25, 103 (1976)

Niedorf, H.R., Wolters, B. und Hobik, H.P.

Die Hardersche Drüse: Ein drittes lympho-
epitheliales Organ beim Hühnchen

Verh. Dtsch. Ges Path. 58, 516 (1974)

- Pardo, A.G., Lamm, M.E. and Frangione, B.
Secretory component is covalently
bound to a single sub-unit in
human secretory IgA
Molecular Immunology 16, 477 (1979)
- Parry, S.H. and Porter, P.
Characterization and localization of
secretory component in the chicken
Immunology 34, 471 (1978)
- Patterson, R., Youngner, J.S., Weigle, W.O., Dixon, F.J.
Antibody production and transfer to
egg yolk in chickens
J. Immunol. 89, 272 (1962)
- Reade, P.C., Jenkin, C.R. and Turner, K.J.
The synthesis by foetal chicks and rats
of serum proteins having some properties
of the immunoglobulins
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 43, 699 (1965)
- Reynolds, J., Gyure, L., Andrew, E. and Hall, J.G.
Studies on the transport of polyclonal
IgA antibody from blood to bile in
rats
Immunology 39, 463 (1980)
- Rose, M.E., Orlans, E. and Buttress, N.
Immunoglobulin classes in the hen's egg:
their segregation in yolk and white
Eur. J. Immunol. 4, 521 (1974)

- Rose, M.E., Orlans, E., Payne, A. and Hesketh, P.
The origin of IgA in chicken bile:
its rapid active transport from blood
Eur. J. Immunol. 11, 561 (1981)
- Sanders, B.G. and Case, W.L.
Chicken secretory immunoglobulin:
chemical and immunological characteri-
zation of chicken IgA
Comp. Biochem. Physiol. 56B, 273 (1977)
- Scheidegger, J.J.
Une micromethode de l'immune-électro-
phorèse
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
- Schranner, I., Lösch, U. und Merckenschlager, M.
Das Serumproteinmuster des Haushuhns.
Vergleichende Darstellung der Serumpro-
teine normaler und defekter Hühner
Zbl. Vet. Med. A 29, 327 (1982)
- Siegmann, O., Hinz, K., Kaleta, E.F., Kösters, J.,
Lüders, H., Monreal, G.
Kompendium der Geflügelkrankheiten
Verlag M.&H. Schaper (1983)
- Thorbecke, G.J., Warner, N.L. and Hochwald, G.N.
Immune globulin production by the bursa
of Fabricius of young chickens
Immunology 15, 123 (1968)

Underdown ,B.J. and Socken, D.J.

A comparison of secretory component -
immunoglobulin interactions amongst
different species

Adv. Exp. Med. Biol. 107, 503 (1978)

Watanabe, H. and Kobayashi, K.

Peculiar secretory IgA system identified
in chickens

J. Immunol. 113, 1405 (1974)

Watanabe, H., Kobayashi, K. and Isayama, Y.

Peculiar secretory IgA system identified
in chickens II. Identification and
distribution of free secretory component
and immunoglobulins of IgA, IgM, and IgG
in chicken external secretions

J. Immunol. 115, 998 (1975)

Yamamoto, H., Watanabe, H., Sato, G. and Mikami, T.

Identification of immunoglobulins in
chicken eggs and their antibody
activity

Jap. J. vet. Res. 23, 131 (1975)

Ziegelmaier, R.

Über die Resorption der Immunglobuline
beim Eintagsküken

Dissertation, München (1969)

Lebenslauf

28.09.1959	Geboren in Nürnberg als Sohn des Architekten Karl Rammensee und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Schneider
1965 - 1969	Grundschule in Nürnberg
1969 - 1977	Willstättergymnasium in Nürnberg
24.6.1977	Allgemeine Hochschulreife
1977 - 1978	Wehrdienst
1978 - 1983	Studium der Tiermedizin an der Universität München
März 1984	Staatsexamen
30.3.1984	Approbation

Herrn Professor Dr. U. Lösch danke ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche wissenschaftliche Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Frau. Dr. I. Schraner unterstützte mich in zuverlässiger und dankenswerter Weise bei der Erlernung und Durchführung immunologischer Arbeitsmethoden.

Ferner gilt mein Dank auch den übrigen Mitarbeitern des Labors.

Zugleich danke ich Herrn Professor Dr. M. Merkschlager und Herrn Professor Dr. H. Zucker für den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz.

